Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
und dem Zentralinstitut für Anaethesiologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

STOFFWECHSELUNTERSUCHUNGEN IN KONSERVIERTEM VOLLBLUT UNTER ZUSATZ VON MAGNESIUM–ASPARTAT

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HANS–GEORG SCHAIBLE
aus Rottweil

1978

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
und dem Zentralinstitut für Anaethesiologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

STOFFWECHSELUNTERSUCHUNGEN IN KONSERVIERTEM VOLLBLUT UNTER ZUSATZ VON MAGNESIUM–ASPARTAT

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
HANS–GEORG SCHAIBLE
aus Rottweil

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.- E. Hoffmeister

1. Berichterstatter : Professor Dr. W. Heller
(Professor Dr. L. Koslowski)

2. Berichterstatter : Privatdozent Dr. H. Junger
(Professor Dr. R. Schorer)

Gedruckt bei Fa. H.- J. Köhler , Neue Straße 11 - 7400 Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
1. ACD-Blutkonservierung (Literaturübersicht)	2
2. Magnesium-L-Aspartat (Literaturübersicht)	7
II. METHODIK	12
1. Allgemeine Methodik, Gewinnung des Konservenblutes	12
2. Spezielle Methodik (Stoffwechseluntersuchungen)	14
III. STATISTIK	22
IV. ERGEBNISSE	23
1. Beschreibung der Ergebnisse	
a) Adenosintriphosphat	23
b) Adenosindiphosphat	24
c) Adenosinmonophosphat	26
d) Anorganisches Phosphat im Serum	27
e) Natrium im Serum	29
f) Kalium im Serum	30
g) Chlorid im Serum	32
h) Magnesium im Serum	33
i) Hämoglobin im Serum	35
j) Hämatokrit	36
k) Abfüllmenge des Blutes	37
2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse	39
V. KRITIK DER METHODIK	41
1. Messungen im Vollblut	41
2. Messungen im Serum	42
VI. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	44

Seite

1. Abschnitt 1: Stoffwechsel und Zellstruktur in Kontroll- und Prüfserie 44

a) Hämatokrit 44

b) pH-Wert 47

c) Energiestoffwechsel 50

2. Abschnitt 2: Einfluß von Magnesium-L-Aspartat 60

3. Abschnitt 3: Klinische Verwertbarkeit von Magnesium-L-Aspartat bei der Blutkonservierung 73

VII. ZUSAMMENFASSUNG 76

VIII. LITERATURVERZEICHNIS 77

LEBENSLAUF

EINLEITUNG

Die Übertragung von Blut ist ein wichtiger Bestandteil in allen Bereichen der Medizin geworden, seit es möglich ist, Blut so zu konservieren, daß es im Empfängerorganismus seine Funktionen in solchem Ausmaß wieder wahrnimmt, daß es körpereigenes Blut wirkungsvoll ersetzen kann. Wirkungsvoller Ersatz ist aber nicht gleichzusetzen mit hundertprozentigem Ersatz verlorenen Blutes. Neben den essentiellen erwünschten Wirkungen muß eine ganze Reihe unerwünschter Effekte in Kauf genommen werden, z.B. die Erkrankung an einer Hepatitis. Diese Arbeit setzt sich aber mit solchen unerwünschten Effekten auseinander, die gerade durch die Blutkonservierung selbst entstehen. Blut als Gewebe kann ohne jegliche Schädigung in flüssigem Zustand nicht konserviert werden, da die Aufbewahrung in einem geschlossenen System und unter unphysiologischen Bedingungen einen starken Eingriff in das Eigenleben der Zellen darstellt. Das Ziel ist folglich, so zu konservieren, daß dem Blut möglichst wenig geschadet, dem Empfänger möglichst viel genützt wird.

Trotz vieler Versuche mit anderen Methoden wird auch heute noch der altbewährte ACD- Stabilisator viel verwendet, was vielleicht darauf schließen läßt, daß die ideale Konservierung mit keinem Mittel bisher erreicht worden ist. - In diesen Untersuchungen sollte geprüft werden, ob der Zusatz einer Substanz, die in den letzten Jahren in andern Bereichen viel Bedeutung erlangt hat, die ACD - Konservierung wirksam verbessern kann. Es besteht die Frage, ob diese Substanz, die in Stoffwechselprozesse eingreift, im Konservenblut ein geeignetes Stoffwechselsystem vorfindet, um ihre Wirkung entfalten zu können. Es handelt sich um das Magnesium - L - Aspartat.

Zunächst sollen kurz die wichtigsten Stoffwechselprozesse, die in einer ACD - stabilisierten Konserve ablaufen, zusammengefaßt werden. Darauf folgt ein Überblick über die bisherigen klinischen Erfahrungen

mit dem Magnesium - L - Aspartat und über die biochemischen Grundlagen seiner Wirkung.

Die A C D - Blutkonservierung (Literaturübersicht)

Eine gute Blutkonservierung zeichnet sich dadurch aus, daß während der Lagerung möglichst wenige Zellen zugrundegehen und nach der Transfusion möglichst viele Zellen dem Empfängerorganismus über längere Zeit erhalten bleiben. Die Erfahrung hat gezeigt, daß zwar die meisten Zellen die Lagerungsperiode überstehen, daß jedoch bereits 24 Stunden nach der Transfusion eine erhebliche Zellzerstörung im Empfängerorganismus nachweisbar ist (25). So beschreibt SASS, daß nach 21 - 28 tägiger Lagerung innerhalb von 24 Stunden nach der Transfusion 25 bis 30 % der übertragenen Zellen im Kreislauf ihre Lebensfähigkeit verloren haben, während die restlichen normal zu überleben scheinen (55). Lagert man die Konserven 30 bis 35 Tage lang, sollen sogar 50 % der Zellen innerhalb des ersten Tages nach der Transfusion zugrundegehen (25). Daß aber die Sequestration im Kreislauf nicht einfach Eliminierung von normal gealterten Zellen bedeutet, zeigt sich schon allein in der Tatsache, daß hauptsächlich junge Zellen der Konservierung zum Opfer fallen (25, 55). Das hat dazu geführt, daß man solche Veränderungen, die im Unterschied zur normalen Alterung speziell bei der Blutkonservierung ablaufen, als "Konservierungsschaden" bezeichnet (13, 47). Die beträchtliche Zellzerstörung tritt zum größten Teil erst nach der Transfusion im Kreislauf auf, weil viele Zellen dem mechanisch bedingten Stress der Passage durch Kapillaren und durch das RES nicht gewachsen sind. Die Zellen zeigen nach der Lagerung ein kleineres hämolytisches Volumen (64,68) und eine erhöhte Fragilität (1, 64). Verminderte osmotische und mechanische Resistenz führt unter der Belastung des Kreislaufs zu vermehrter Hämolyse (5, 33, 68). Mit der Lagerungszeit wächst die Zahl morphologisch veränderter Zellen in der Konserve. Früh schon sind Stechapfelzellen zu sehen, bald auch Quellformen. Nach 20 bis 25 Ta-

gen sollen 70 % bis 75 % der Erythrozyten morphologisch verändert sein (34). Diese Veränderungen sind auf metabolische Störungen zurückzuführen. In vielen Untersuchungen ist nachgewiesen worden, daß die Strukturintegrität einer Zelle vom intakten Stoffwechsel abhängt. Zentrale Bedeutung hat der ATP - Gehalt der Zelle (1, 33, 38, 44a, 46, 68). ATP korreliert mit der Lebensfähigkeit einer Zelle (25). Während der Lagerung fällt der ATP - Spiegel in der Konserve ab (1, 3, 5, 13, 25, 33, 38, 44a, 47, 65). Bereits nach ein bis zwei Wochen Lagerungszeit liegt der ATP - Spiegel unter dem normalen Niveau (66), nach sechs Wochen sind noch 25 % der Aktivität nachzuweisen (25, 29). In den jungen Zellen ist der ATP - Abfall prozentual größer als in den älteren (55). Mit dem ATP - Abfall ist ein Anstieg an ADP und AMP verbunden. Doch auch diese Nucleotide werden weiter abgebaut (AMP und Adenosin werden desaminiert (7a, 38, 47, 65)). Das Absinken des ATP - Spiegels wird als Trigger für metabolische und strukturelle Störungen gewertet (66). Strukturelle Veränderungen bei ATP-Abfall sind Sphärisierung der Zellen (Kugelzellen) (1, 7a, 7b, 25, 38, 55, 68, 71), leichtere Destruierbarkeit im Kreislauf (13, 38, 68) und weitere, die oben genannt wurden. Die Überlebenszeit nach der Transfusion soll direkt mit dem ATP-Gehalt korrelieren (66). Ein Absinken des ATP-Spiegels führt zur verminderten Überlebensfähigkeit der Erythrozyten nach der Transfusion (25). Nach RAPOPORT ist ATP der begrenzende Faktor überhaupt in der Konservierung (47), und letztlich ist der Konservierungsschaden auf ATP-Verluste zurückzuführen (47). Gelingt es nämlich, den ATP-Gehalt zu erhöhen, indem man Purinnucleoside zusetzt (Inosin, Adenosin, Adenin), läßt sich zeigen, daß diese Konservierungsschäden wie verminderte Überlebensfähigkeit, morphologische Veränderungen der Zellen, verminderte osmotische Resistenz, in weit geringerem Maße auftreten (5, 16, 64, 65). Diese Schlüsselrolle besitzt das ATP aufgrund seiner Aktivität in vielen unterschiedlichen Stoffwechselsystemen und aufgrund seiner regulativen Funktion im einzelnen Stoffwechselprozess. Zunächst steuert ATP dasjenige Stoffwechselsystem, durch dessen Aktivität es

selbst regeneriert wird, die Glykolyse. Bevor im unteren Abschnitt dieses Stoffwechselsystems ATP gewonnen werden kann, wird eine bestimmte Menge dieses energiereichen Nucleotids im oberen Teil als Coenzym verbraucht (7a, 9, 25, 46, 47). Das macht die genannte Triggerfunktion deutlich: ATP ist Coenzym der Hexokinase und der Phosphofructokinase (7a, 7b, 44a, 46, 47). Die Hexokinase wird als wichtigstes Schlüsselenzym für die Glykolyse angesehen (5, 7a, 7b, 39, 46), denn sie besitzt im Gegensatz zu anderen Enzymen nur das Doppelte der Aktivität, die die Glykolyse im ganzen aufweist (7a). Die Glykolyse als energieerzeugendes System ist im konservierten Blut erheblich gebremst (1, 5, 29, 57). So soll die Glucoseutilisation der Erythrozyten statt 20 mg Glucoseverbrauch /gr Hb x Tag bei 37°C nur 1 mg /gr Hb x Tag betragen (25). Es kommt zu dieser Aktivitätseinbuße, weil die Hexokinasereaktion als Initialschritt einen kräftigen Aktivitätsabfall zeigt, der bedingt ist durch die Temperatur von 4°C und den unphysiologischen pH - Wert in einer Konserve (25, 29, 65). So beträgt der pH-Wert nach Durchmischung des Stabilisators (pH=5.0) (59) mit dem Spenderblut initial 6.9 bis 7.0 (29) und fällt im Laufe der Konservierung durch die Anhäufung saurer Metabolite (Lactat) auf 6.6 bis 6.5 ab (16, 25, 44a, 57, 59, 65). Dieser sofort einsetzende und ständig fortschreitende pH-Abfall (65) beeinträchtigt die Hexokinase (pH-Optimum = 7.8) (57) erheblich. Eine derartige temperatur- und pH-abhängige Aktivitätsminderung führt zu vermindertem Glucoseverbrauch, verminderter Energiebereitstellung und zu verminderter Reutilisation von anorganischem Phosphat (57, 66). So entsteht die Situation, daß letztlich nicht so sehr die Abnahme der Enzymaktivitäten, sondern der eintretende Mangel an Coenzym ATP die Hauptrolle beim Konservierungsschaden spielt (25, 45, 47). Der ATP-Spiegel fällt jedoch trotz dieser geringen Stoffwechselrate des Glykolysesystems so langsam ab, daß er zumindest für eine bis zwei Wochen nicht unter die kritische Schwelle fällt.

Dafür ist zu einem großen Teil das in den Erythrozyten vorliegende 2,3 - DPG verantwortlich. Bekanntlich wird im Erythrozyten im

RAPOPORT-LIEBERING-Shunt der größte Teil des 1,3 - DPG durch die 2,3 - Diphosphoglyceratmutase in 2,3 - DPG überführt (4, 9, 25, 46, 47). 2,3 - DPG ist eine energieärmere Substanz als 1,3 - DPG (9). Es kann bei seiner Umwandlung zu 3 - Phosphoglycerat durch die Phosphoglyceratase kein ADP phosphorylieren (9). So geht zunächst eine ATP-generierende Reaktion verloren. Unter Konservierungsbedingungen aber stellt 2,3 - DPG einen Energiespeicher dar (5, 25, 47). Die 2,3 - Diphosphoglyceratase hat ihr pH - Optimum im sauren Milieu, wird folglich vermehrt gespalten und das aus ihr entstehende 3 - Phosphoglycerat kann in der später folgenden Pyruvatkinasereaktion zur ATP - Gewinnung beitragen (29, 47, 59). In vivo dagegen wird 2,3 - DPG angehäuft, denn die Mutase arbeitet im Alkalischen optimal (59). So trägt der 2,3 - DPG-Abfall einerseits zur ATP-Bereitstellung bei, andererseits ist er höchst unerwünscht, denn durch den Verlust an 2,3 - DPG wird die Affinität des Sauerstoffs zu Hämoglobin erhöht (59, 66), und die Sauerstoffbindungskurve nach links verschoben (25, 65). Es droht unter Umständen eine Gewebsanoxie (25). Das entspricht keineswegs der Forderung, daß so konserviert werden soll, daß dem Blut wenig geschadet, dem Empfänger viel genützt wird.

Ebenso bedeutsam ist das ATP als Substrat zahlreicher ATPasen der Zellmembran und des Stroma (9, 15, 21, 32, 47, 52). Auch ATPasen haben ihr pH-Optimum im Alkalischen (25). Unter normalen Bedingungen sind viele ATP-spaltende Enzyme inaktiv, solange der Erythrozyt eine intakte Zellstruktur besitzt. Solche ATPasen werden bei Gefahr aktiv (5, 25, 36, 47). Eine gut studierte und enorm wichtige ATPase ist die membrangebundene S-ATPase (7a, 52), die entgegen den jeweiligen elektrochemischen Gradienten Kalium in die Zelle hinein-, Natrium aus der Zelle heraustransportiert. Unter normalen Bedingungen werden 35 % des gebildeten ATP für diese Membran-ATPasen verbraucht (1). Die passive Diffusion des Kalium aus der Zelle und des Natrium in die Zelle muß ständig durch die Membranpumpe ausgeglichen werden, denn eine Verteilungsstörung der Elektrolyte bewirkt

Störungen im Stoffwechsel und in der Form der Zellen (57). Viele Enzyme der Zelle benötigen zu ihrer Aktivität eine hohe intrazelluläre Kaliumkonzentration (Beispiel Phosphofructokinase (7a)).- In einer Blutkonserve ist das Kalium im Extrazellulärraum bereits nach 48 Stunden deutlich angestiegen (29). Der Kalium/Natrium-Austausch kann unter Konservierungsbedingungen durch die Pumpen nicht kompensiert werden (5). Die extrazelluläre Kaliumkonzentration soll direkte Hinweise geben auf die energetische Situation der Zellen (57), denn mit Insuffizienzerscheinungen steigt das Kalium im extrazellulären Raum prompt an. Auch hier sind die Abweichung vom optimalen pH-Bereich der ATPasen (s.o.) und die niedere Konservierungstemperatur wichtige Ursachen. Die passive Diffusion als physikalischer Prozeß hat einen wesentlich niedrigereren Q-10-Wert als ein chemischer aktiver Prozeß (25).

Auch die Membran selbst erleidet Schäden in ihrer Struktur. Sie verliert Lipide und Lipoproteine (25, 64, 66).
ATP ist auch Substrat der I - ATPase (membrangebunden), die wahrscheinlich bei der Aufrechterhaltung der Erythrozytenform und der Deformierbarkeit eine wesentliche Rolle spielt (7a).- Die morphologischen Veränderungen bei ATP-Abfall sind oben beschrieben worden.

Phosphorylierungen, Kationentransport, die Aufrechterhaltung der Zellstruktur sind zusammengefaßt die wichtigsten Vorgänge, bei denen ATP als energiereiches Nucleotid verbraucht wird (5). Störungen dieser Funktionen sind auch als spontane Hämolyse zu messen (34). Nach dem 31. Lagerungstag soll Hämoglobin im Serum 100 mg% überschreiten (34).

Die Leukozyten sind in der ACD-Lösung schlecht konservierbar. Nach einer Lagerung von 48 Stunden sind ungefähr 50 % der segmentkernigen Granulozyten zerstört (1). Am 2. und 3. Tag sind nur noch wenige Granulozyten zu zählen (29, 34). - Lymphozyten sind besser zu erhalten, doch auch sie zeigen nach dem 20. Tag Quellformen (29, 34). Bio-

chemisch findet man einen starken Aktivitätsverlust von Enzymen, die in vivo eine anaerobe und aerobe Glykolyse ermöglichen (5).

Auch die Thrombozyten lassen sich in einer ACD-Lösung schlecht konservieren. Nach 7 Tagen sind 77 % nachweisbar, nach 21 Tagen 45 % (5). Im Empfänger überleben nur wenige Zellen (29). Wie in den andern Zellen führt auch hier eine enorme Aktivitätsminderung von Enzymen zu starken ATP-Verlusten (5).

Aus allen genannten Gründen und nicht beschriebenen Umständen begrenzt man die ACD-Konservierungsdauer auf 21 Tage, denn nach 24 Stunden Verweildauer im Empfängerorganismus sollen mindestens noch 70 % der transfundierten Erythrozyten im Kreislauf nachweisbar sein (29).

Nach der Beschreibung der Vorgänge in einer ACD-Konserve soll ausgeführt werden, warum ein Experiment unternommen worden ist, den Effekt des Magnesium - L - Aspartats auf ACD - konserviertes Blut zu erproben.

M a g n e s i u m - L - A s p a r t a t (Literaturübersicht)

Nach den Angaben der Herstellerfirma Dr. FRANZ KÖHLER Chemie KG, Alsbach ist Magnesium - L - Aspartat ein Chelatkomplex, bei dem ein zentrales Magnesiumion mehrere Bindungen zu 2 Molekülen Asparaginsäure eingeht. Das Molekulargewicht beträgt 360,60. 1 Gramm Magnesium-L-Aspartat entspricht 0,993 gr. Asparaginsäure und 0,0674 gr. Magnesium (= 5,54 mval Magnesium). Die Löslichkeit in Wasser ist gut. Die wässrigen Lösungen lassen sich ohne Zersetzung in Dampf sterilisieren.

Beide Komponenten dieser Substanz besitzen wichtige Funktionen im Zellstoffwechsel. Aus Gründen der Übersichtlichkeit soll zunächst die Bedeutung des Magnesiums, danach des Aspartats kurz beschrieben

werden. Bei der Erörterung der Magnesiumwirkung soll auch das Kalium miterfaßt werden.

Magnesium erfüllt seine Funktionen innerhalb der Zelle (19). Das ist schon aus seiner Konzentrierung im intrazellulären Kompartiment zu folgern. Im intrazellulären Raum der Gewebe liegen durchschnittlich 20 mval/l vor (62), im extrazellulären Raum 1,7 - 2,3 mval/l (62), im Serum 1,5 - 2,5 mval/l (39). 55 % des Magnesiums im Serum sind ionisiert, der Rest liegt an Proteine gebunden vor (62). Somit ergibt sich eine Verteilung von 1 % im extrazellulären Raum, von 99 % im intrazellulären Kompartiment (35). Mengenmäßig steht das Magnesium in der Zelle an zweiter Stelle hinter dem Kalium hinsichtlich des Elektrolytgehalts (62).

Entsprechende Daten für Kalium sind ca. 5 mval/l im Plasma (49), in den Erythrozyten 100 mval/1000 gr Feuchtgewicht (49). Folglich befindet sich Kalium zu 98 % im Intrazellulärraum, zu 2 % im Extrazellulärraum, was einem Gradienten von 20 : 1 entspricht (37).

Die Bedeutung des Magnesiums und des Kaliums ergibt sich aus der Tatsache, daß Magnesium und Kalium Cofaktor vieler Enzyme des Eiweiß-, Kohlehydrat- und Nucleotidstoffwechsels sind (62). Das Magnesium ist bei allen Transphosphorylierungen beteiligt, in die ATP verwickelt ist (17). Zum Beispiel werden die Hexokinase (7a, 7b, 33, 46, 62), die Phosphofructokinase (7a, 7b), die Kalium/Natrium-Membran-ATPase (7a, 35, 37, 38, 41, 43, 52) und viele andere Enzyme der Glykolyse und anderer Stoffwechselwege stimuliert. Generell benötigen alle Kinasen Magnesium als Aktivatoren (50a). Damit ist Magnesium essentieller Bestandteil im Stoffwechsel der aktiven Phosphate (35,37).

Magnesium besitzt große Affinität zu den aktiven Phosphaten, und je länger die Phosphatkette, desto größer die Affinität (35).

Magnesium führt durch seine elektrischen Eigenschaften die Verbindung der Enzyme mit den aktiven Phosphaten herbei (35). Außer dem

Mg-ATP-Komplex müssen zur Aktivierung eines Enzyms auch andere Ionen gebunden sein, zum Beispiel das Kalium (35). Dabei bestehen charakteristische stöchiometrische Beziehungen zwischen Enzym, Substrat und Metallaktivator, soll die Aktivität des Enzyms optimal sein (17, 35). Befindet sich ein Reaktionsteilnehmer im Überschuß, kann es zur Verdrängung der andern kommen, was unter Umständen zur Bildung eines inaktiven Enzymkomplexes führt (17, 35).

Kalium und Magnesium steuern den Citratzyklus (37). Auch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien wird stimuliert (37).

Gerät die Zelle unter Belastungen in einen Elektrolytverlust bzw. eine Stoffwechseldepression, so müssen entsprechende Elektrolyte zugeführt werden. Das größte Problem ist, daß die Elektrolyte tatsächlich in die Zellen aufgenommen werden. Hier tritt die Asparaginsäure in den Vordergrund, denn sie soll im Gegensatz zu andern Anionen (Chlorid, Lactat) die Fähigkeit besitzen, Elektrolyte in die Zelle einzuschleusen (s.u.).

Asparaginsäure ist eine Monoaminodicarbonsäure mit folgenden Dissoziationkonstanten: pK 1 = 1,88; pK 2 = 3,65 ; pK 3 = 9,60. Der isoelektrische Punkt liegt bei pH = 2,77 (Angaben der Firma Dr. FRANZ KÖHLER, Chemie). Bei physiologischem pH-Wert liegt Asparaginsäure als einwertiges Anion vor (51).

Die Asparaginsäure zeichnet sich vor andern Aminosäuren durch ihre hohe Affinität zum intrazellulären Raum aus (37, 51).

Die optischen Antipoden besitzen unterschiedliche Wirkungen: die L-Form steht im Zusammenhang mit dem Ionentransport in die Zellen (58), die D-Form greift stimulierend in den Zellstoffwechsel ein (58).

Grundlage der Wirkung auf den Zellstoffwechsel ist die rasche Metabolisierung der Asparaginsäure in den meisten Zellen (51). Aus Asparaginsäure entsteht durch Transaminierung und oxidative Desaminie-

rung Oxalessigsäure (17, 32, 37, 51). Oxalessigsäure ist ein Substrat der Gluconeogenese (9, 17, 51). Zusammen mit Acetyl - C o A startet sie den Citratzyklus (9, 17, 37, 51). - Verbindet sich Asparaginsäure mit Citrullin zu Succinylarginin (17, 32), wird der Harnstoffzyklus stimuliert (37). Schließlich führt Asparaginsäure nach Umwandlung zu Orotsäure (9, 17) zu vermehrter Purin - und Pyrimidinsynthese (17, 51).

Bei Zufuhr von D - Aspartat in therapeutischer Absicht wird vor allem die Erhöhung des Querschnitts im Citratzyklus ausgenutzt (37). Das Oxalessigsäurereservoir wird größer, damit stehen mehr Akzeptormoleküle für Acetyl - CoA zur Verfügung, und die ATP-Ausbeute wächst (37), was in Situationen der Stoffwechseldeprimierung sehr wichtig werden kann.

Die Wirkung der Asparaginsäure im transmembranösen Ionentransport ist an die L-Form gebunden (58). Sie bildet Chelate mit hoher Komplexbindungskonstante (37).

Damit sollen erstens Kationen in die Zellen eingeschleppt werden (37, 58), und zweitens sollen die Chelatmoleküle dadurch, daß sie längere Zeit undissoziiert in der Zelle liegen bleiben, raschen Elektrolytverlusten aus der Zelle unter Stressbedingungen entgegenwirken (37). Zum Beispiel wird die rasche Kaliumabgabe aus Valinomycinbehandelten Leberzellen verhindert (11).

Darüber hinaus wird von den eingebrachten Elektrolyten auch eine Stimulierung von Stoffwechselprozessen erwartet (Aktivatorfunktion) (37). Der Ausgleich intrazellulärer Kationenverluste vergrößert nach I. MÜNCHEN die Umlaufgeschwindigkeit mineralgesteuerter Enzyme, besonders auf der Stufe der Re-, und Dephosphorylierungsreaktionen im ATP/ADP-System (37). Damit gehe von Kalium und Magnesium eine hochsignifikante Verbesserung des Energiepotentials aus, die von einer anorganischen Bindung dieser Ionen nicht zu erbringen sei (37).

Es liegen klinische Erfahrungen in vielen Anwendungsbereichen vor. Dabei konnten in Experimenten die beschriebenen Effekte verifiziert werden.

Gibt man Kalium-Aspartat während einer Operation, bei der eine Herz-Lungenmaschine verwendet wird, dann reichert sich Kalium in den Erythrozyten und Muskelzellen an (58).

Die Arbeitsgruppe um HELLER und JUNGER berichtet, daß der intraoperative ATP-Abfall durch Kalium-Magnesium-Aspartat-Zufuhr nicht nur verhindert, sondern daß der ATP-Spiegel im Vollblut sogar gesteigert werden kann (24).

Der Mechanismus der gleichzeitigen Aufnahme von Elektrolyt und Aspartat ist noch nicht endgültig geklärt. Verschiedene Vorstellungen über den Aufnahmemodus sollen in der Diskussion zur Sprache kommen. Jedoch soll hier schon vermerkt werden, daß es sich dabei um einen aktiven Prozeß handelt. Von besonderem Interesse sind bei der Aufnahme die Wechselwirkungen zwischen der Asparaginsäure und den verschiedenen Elektrolyten.

Die bisherigen Erfolge mit (Kalium-)-Magnesium-Aspartat gaben den Anlaß dazu, orientierend zu erproben, ob diese Substanz auch den Stoffwechsel von Konservenblut positiv beeinflussen kann. Es sollte experimentell geklärt werden, ob Magnesium-L-Aspartat in der Lage ist, gewisse Elemente des Konservierungsschadens zu verringern, so zum Beispiel den Kalium-Anstieg im Serum oder die energetische Insuffizienz.

METHODIK

Allgemeine Methodik, Gewinnung des Konservenblutes

In den vorliegenden Untersuchungen sollten mögliche Auswirkungen auf konserviertes Blut gezeigt werden, wenn man dem gebräuchlichen ACD-Stabilisator 20%ige Magnesium-L-Aspartat-Lösung zusetzt. So sollte gezeigt werden, ob sich zunächst überhaupt irgendwelche Veränderungen gegenüber der reinen ACD-Konservierung nachweisen lassen. Sichtbare Einflüsse sollten dann verschiedenen Stoffwechselvorgängen bzw. Stoffwechselsystemen im konservierten Blut zugeordnet werden. Von den Ergebnissen wurden hauptsächlich Hinweise darüber erwartet, ob es sinnvoll ist, in der Blutkonservierung überhaupt mit Magnesium-L-Aspartat zu arbeiten, oder ob die Verwendung dieser Substanz schon bei diesen globalen Untersuchungen Effekte zeigt, die eine Anwendung in der Praxis der Blutkonservierung von vorneherein ausschließen. Es mußten deshalb solche Stoffwechselparameter für die Bestimmung ausgewählt werden, die summarisch über die wichtigsten Stoffwechselabläufe Auskunft geben und damit eine Wirkung des Magnesium-L-Aspartatzusatzes überhaupt erkennbar machen konnten, die aber gleichzeitig auch von so zentraler Bedeutung für Konservenblut sind, daß bereits aus der Analyse dieser entscheidenden Stoffwechselprodukte die oben gestellte Frage "sinnvoll - nicht sinnvoll" näherungsweise beantwortet werden konnte. Ein positiver Effekt mußte also schon in einer relativ einfachen, unter klinischen Bedingungen durchgeführten Untersuchung sichtbar werden.

Meine Messungen umfaßten:

Energiestoffwechsel :	Adenosintriphosphat Adenosindiphosphat Adenosinmonophosphat (alle Bestimmungen im Vollblut)
Kationen im Serum :	Natrium Kalium Magnesium

Anionen im Serum : Chlorid
Anorganisches Phosphat

Hämoglobin im Serum

Hämatokrit

Bei den zur Diskussion erforderlichen Parametern der Glykolyse wurde auf Meßwerte von KLÄGER, der entsprechende Bestimmungen durchgeführt hat, zurückgegriffen.

Es wurde eine Prüfserie angelegt, bei der dem ACD-Stabilisator 20% ige Magnesium-L-Aspartat-Lösung beigefügt worden war. Die verwendete Menge und Konzentration des Magnesium-L-Aspartats war in früheren Vorversuchen als optimal herausgestellt worden (22). Diese Prüfserie wurde in den genannten Parametern mit einer Kontrollserie verglichen, bei der reiner ACD-Stabilisator gebraucht wurde.

Zur Blutkonservierung wurden 100 - Milliliter-Glasflaschen benutzt, die von der Firma "Dr. FRANZ KÖHLER CHEMIE KG" vorbereitet worden waren. Jedes Glasgefäß der Nullserie enthielt 7,5 ml ACD-Stabilisator der Formel A

22,0 gr Natrium. citric. neutrale 2 H_2O
8,0 gr Acid. citric. H_2O
24,5 gr Saccharum amylac.
Aqua pro inj. ad 1000 ml,

jede Flasche der Prüfserie 7,5 ml modifizierte ACD-Lösung mit Zusatz von 3,0 ml Magnesium-L-Aspartat-Lösung nach der Formel

22,0 gr Natrium citric. neutrale 2 H_2O
8,0 gr Acid. citric. H_2O
12,0 gr Saccharum amylac.
unter Zusatz von
20%iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung
Aqua pro inj. ad 1000 ml

Alle Flaschen waren sterilisiert worden. Außerdem hatte man für die

Blutabnahme in den Flaschen einen leichten Unterdruck erzeugt. Vor der Blutabnahme wurden die Flaschen gewogen.

Die Spender waren zwischen 20 und 30 Jahre alt, 4 weiblichen Geschlechts, 17 männlichen Geschlechts. An jedem Abnahmetag kamen 3 Spender morgens nüchtern zur Blutabnahme, wobei körperliche Anstrengungen vorher zu vermeiden waren.

Von jedem Spender wurden im Liegen mit dem üblichen Besteck und der üblichen Technik 4 Flaschen der Nullserie und 4 Flaschen der Prüfserie ad 50 ml gefüllt. Dabei wurde viermal zuerst ein Fläschchen der Nullserie und darauf ein Fläschchen der Prüfserie gewählt, damit zufällige Störungen sich möglichst in gleicher Weise auf beide Serien auswirken sollten.

1 bis 2 Stunden nach der Blutabnahme wurden die Flaschen zugleich in einen Kühlraum gebracht, wo sie bis zur Untersuchung erschütterungsfrei gelagert wurden.

Spezielle Methodik (Stoffwechseluntersuchungen)

Jeweils am 1., 3., 7., 21. Tag nach der Blutabnahme wurden je eine Flasche der Prüfserie und eine Flasche der Nullserie von drei Spendern untersucht. Zur Erhaltung der Temperatur $4^{\circ}C$ wurden die Flaschen in Eis gestellt. Für die Berechnung der genauen Menge des abgefüllten Blutes wurde das Gewicht jeder Flasche bestimmt, davon der Leerwert (s.o.) subtrahiert. Zunächst wurde bei jeder Flasche mit einer Kanüle der Kunststoffverschluß durchstochen und in eine Spritze ca. 2 - 3 ml Blut aufgezogen, ohne daß ein Gasaustausch mit der Außenluft möglich war (30). Zur Bestimmung der oben aufgezählten Parameter wurden die Flaschen geöffnet. Mit Hilfe von Pipetten wurden definierte Blutvolumina in vorher entsprechend vorbereitete Prüfröhrchen eingebracht:

- zur Adenosintriphosphat - Analyse 1,0 ml Blut in 4,0 ml eiskalte 0,6 N Perchlorsäure
- zur Bestimmung von Adenosindiphosphat/Adenosinmonophosphat 5,0 ml Blut in 5,0 ml eiskalte 1,0 N Perchlorsäure
- in ein leeres Reagenzglas ca. 10 ml Blut für die Gewinnung von Serum.

Zur vollständigen Enteiweißung wurden die entsprechenden Prüfröhrchen kräftig geschüttelt. Darauf wurde zur Gewinnung von klarem Überstand zwei- bis dreimal bei ca. 5000 U/min. zentrifugiert, zur Serumgewinnung einmal 10 Minuten bei 5000 U/min.
Direkt im Anschluß daran wurden die Aktivitäten von A T P, A D P, A M P bestimmt. Testansätze s.u. .

Das Serum wurde nach dem Abgießen eingefroren und später auf den Gehalt an Natrium, Kalium, Chlorid, Magnesium, anorganischem Phosphat und Hämoglobin i.S. im Kollektiv untersucht.
Die Messung des Hämatokrits wurde mit einer Hämatokritzentrifuge ausgeführt.

TESTANSÄTZE UND BERECHNUNG DER KONZENTRATIONEN

Adenosintriphosphat

Es wurden Lösungen der Firma BOEHRINGER verwendet und nach der Methode von BÜCHER (in Bergmeyer (2)) bestimmt.

Prinzip:

(1) Glycerat-3-P + ATP ⟶ Glycerat-1,3-diphosphat + ADP

(2) Glycerat-1,3-di-P + NADH + H^+ ⟶ Glycerinaldehyd-3-P + P + NAD

(3) Glycerinaldehyd-3-Phosphat ⟶ Dihydroxyacetonphosphat

(4) Dihydroxyaceton-P + NADH + H^+ ⟶ Glycerin-1-P + NAD

Die 3-Phosphoglycerat-Kinase katalysiert die Phosphorylierung des Glycerat-3 Phosphats zu Glycerat-1,3-diphosphat durch ATP-Spaltung (Reaktion 1). Da das Gleichgewicht dieser Reaktion auf der linken Seite liegt, gibt man Glycerat-3-Phosphat im Überschuß und fängt das Reaktionsprodukt Glycerat-1,3-diphosphat durch die Reaktion (2) ab, in der die Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase unter Phosphatabspaltung die Reduktion des Glycerat-1,3-diphosphats zu Glycerin-aldehyd-3-phosphat katalysiert. Dabei wird Wasserstoff durch die Zugabe von NADH + H^+ zur Verfügung gestellt. Das Gleichgewicht dieser Reaktion liegt rechts, so daß das ganze ATP umgesetzt werden kann.

In Reaktion (3) wird die Isomerisierung des Glycerinaldehyd-3-Phosphats zu Dihydroxyacetonphosphat katalysiert. Das Enzym ist die Triose-Phosphat-Isomerase. Dihydroxyacetonphosphat wird durch die Glycerinphosphat-Dehydrogenase zu Glycerin-1-Phosphat reduziert, wobei NADH + H^+ Wasserstoffdonor ist (4).

Insgesamt entsteht zweimal eine dem ATP äquivalente Menge NAD aus NADH + H^+.

Bestimmung:
In eine Küvette wurden 2,0 ml Lösung 1 einpipettiert. Lösung 1 besteht aus 0,5 M Triäthanolaminpuffer (pH 7,6)
4 mM Magnesiumsulfat
5 mM der Startsubstanz Glycerat-3-phosphat.

Für die Reaktion (2) wurden 0,2 ml Lösung 2
2,5 mM NADH + H^+
zugefügt. In dieses Gemisch wurden 0,2 ml des gewonnenen Überstandes (s.o.) eingebracht. Darauf Messung der Extinktion E_1 in einer Meßküvette (Schichtdicke 1 cm) bei Temperatur 25°C. Quecksilberlampe, Wellenlänge 366 nm.

Nach Ablaufen der Reaktionen (1) und (2) wurden 0,02 ml der Lösung 3 hinzugefügt. Sie enthält die Enzyme

GAPDH (≙ 300 U/ml)
PGK (≙ 500 U/ml)
GDH (≙ 40 U/ml)
TIM (≙ 300 U/ml)

Messung der Extinktion E_2 bis zum Stillstand der Reaktionen.
Berechnung der Konzentrationen an ATP mit der Formel

$$c = 8{,}88 \quad (E_2 - E_1) \text{ in mMol/l.}$$

Adenosindiphosphat
Adenosinmonophosphat

Methode nach H. ADAM in H.U. BERGMEYER (2)
Lösungen der Firma BOEHRINGER Mannheim

Prinzip:

(1) AMP + ATP ⟶ 2 ADP
(2) 2 ADP + 2 PEP ⟶ 2 ATP + 2 Pyruvat
(3) 2 Pyruvat + 2 NADH + 2 H^+ ⟶ 2 Lactat + 2 NAD

In Reaktion (1) wird AMP mittels ATP durch die Myokinase zu ADP umgesetzt. ADP wird zu ATP phosphoryliert durch die Pyruvatkinase. Die Phosphatgruppe stammt von energiereichem Phosphoenolpyruvat, das seinerseits zu Pyruvat umgewandelt wird. Reaktion (2). Das Gleichgewicht liegt links, doch durch die Folgereaktion (3) wird Pyruvat (durch die Lactatdehydrogenase) unter Aufnahme von Wasserstoff aus NADH + H^+ zu Lactat umgewandelt. Diese Reaktion liegt hinreichend weit rechts, so daß alles Pyruvat erfaßt wird.
Gemessen wird die (NADH + H^+)- Abnahme.

Bestimmung:

Nach Gewinnung des Überstandes (s.o.) wurden 5 ml davon zusammen mit 1,0 ml Lösung 1 in ein Reagenzglas einpipettiert.

Lösung 1 enthält: 0,5 M Triäthanolamin - HCL
2,0 M Kaliumbicarbonat

Es wurde gemischt, dann stand das Gemisch 10 Min. im Eisbad. Anschließend wurde 5 Min. lang bei ca. 5000 U/min. zentrifugiert. Abgießen des neuen Überstandes und Erwärmen auf 25°C. Zur Messung des Leerwertes wurden in eine Küvette pipettiert: 2,0 ml des neuen Überstandes, 0,2 ml von Lösung 2, 0,2 ml von Lösung 3, 0,02 ml der Suspension 4.

Lösung 2: 10 mM Phosphoenolpyruvat
1,3 M Kaliumchlorid
0,4 M Magnesiumsulfat
Lösung 3: 2,5 mM NADH + H^+
Suspens. 4: Lactatdehydrogenase 320 U/ml

Reaktion (3) läuft ab, d.h. vorhandenes Pyruvat wird zu Lactat umgewandelt. Messen der Extinktion 1 (NADH - Ausgangswert für die nachfolgende Messung). Nach dem Messen der Extinktion 1 Zugabe von 0,02 ml der Suspension 5.

Suspens. 5: Pyruvatkinase 320 U/ml

Die Reaktionen (2) und (3) laufen ab. Nach obigem Schema entsteht in äquivalentem Verhältnis zum vorhandenen ADP NAD. Messen der Extinktion 2. Nachdem alles ADP aus dem Ansatz entfernt war (Reaktionen haben Stillstand erreicht), wurden 0,6 ml der Suspension 6 inkubiert.

Suspens. 6: Myokinase 500 U/ml

Hierdurch wird AMP zu ADP phosphoryliert (Reaktion (1)) und das entstehende ADP wird wie vorher durch die Reaktionen (2) und (3) umgesetzt. Wiederum zeigt die (NADH + H^+)-Abnahme die Konzentration des AMP an. Nach Erreichen des Stillstandes der Reaktionen Messen der Extinktion 3.

Alle photometrischen Messungen wurden mit einer Glasküvette der Schichtdicke 1 cm bei Hg 366 nm durchgeführt. Meßtemperatur 25°C.

Ermitteln der Konzentrationen

ADP: $c = 819{,}3\,(E_1 - E_2)$ µMol/l

AMP: $c = 411{,}9\,(E_2 - E_3)$ µMol/l

Anorganisches Phosphat

Lösungen der Firma BOEHRINGER

Methode nach ZILVERSMIT in H.U. BERGMEYER (2)

Prinzip:

Anorganisches Phosphat bildet mit Ammoniummolybdat und Ammoniumvanadat einen gelb gefärbten Komplex.

Bestimmung:

0,2 ml Serum (Gewinnung s.o.) wurden zur Ausfällung der Serumproteine zusammen mit 2,0 ml 1,2 N Trichloressigsäure in ein Prüfglas pipettiert. Das Gemisch wurde 10 Minuten lang in einem Wasserbad der Temperatur 25°C stehen gelassen. Anschließend wurde 10 Minuten lang zentrifugiert. Zur Analyse wurden Leerwert, Probe und Standard hergerichtet.

Der Leerwert setzte sich zusammen aus 1,0 ml 1,2 N Trichloressigsäure, 1,0 ml Lösung 1, 1,0 ml Lösung 2.

Lösung 1:	21	mM Ammoniumvanadat
	0,28 N	Salpetersäure
Lösung 2:	40	mM Ammoniummolybdat
	2,5 N	Schwefelsäure

Die Probe enthielt 1,0 ml Überstand und jeweils 1,0 ml der Lösung 1 und Lösung 2.

Der Standard wurde hergestellt aus 1,0 ml Lösung 1, 1,0 ml Lösung 2 und 1,0 ml Standardlösung.

Es wurde gemischt und nach 10 Minuten die Extinktion der Probe und des Standards gegen die Extinktion des Leerwerts gemessen. Verwendung von Glasküvetten mit 1,0 cm Schichtdicke, Messung bei Hg 405 nm, Temperatur zwischen 20 und 25°C.

Berechnung der Konzentration des anorganischen Phosphats im Serum

$$c = 1{,}8 \bar{x} \frac{E\ Probe}{E\ Stand.} \quad (mMol/l)$$

Natrium, Kalium, Chlorid im Serum

Die Bestimmung erfolgte durch Ionenselektive Elektroden (Gerät: Technicon)
Die Serumgewinnung wurde oben beschrieben.

Magnesium im Serum

Die Analyse der Magnesiumkonzentration wurde durch das Verfahren der Atomabsorptionsspektrometrie ausgeführt.
Serumgewinnung s.o.

Hämoglobin im Serum

Methode nach K. SCHMIDT, R. STUNKAT, W. HELLER (56)

Prinzip:
Aus 3-Methyl-2-benzothiazolinon-hydrazon und N, N-Dimethylanilin entsteht unter der Hämoglobineinwirkung ein Farbstoff durch oxidative Kupplung. Die Reagenzien befinden sich im Überschuß, deshalb kontrolliert die Hämoglobinkonzentration den Umsatz.

Bestimmung:

Es wurden 2 Stammlösungen hergestellt.

Stammlösung 1 enthielt:	100 mg MBTH
	0,1 M Salzsäure
	ad 100 ml
Stammlösung 2 enthielt:	1 ml N, N-Dimethylanilin
	0,1 M Salzsäure
	ad 100 ml

Zur Zusammensetzung der Arbeitslösung wurden verwendet:

2,5 ml Lösung 1

5,0 ml Lösung 2

20 ml 10 M Essigsäure

Aqua dest. ad 100 ml.

Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration wurden inkubiert:

2,0 ml frisch zubereitete Arbeitslösung

0,1 ml Serum

0,5 ml Wasserstoffperoxyd (3 %ig)

Die Probe wurde geschüttelt und im Wasserbad bei 37°C 15 Minuten lang stehen gelassen. Mit dem Photometer wurde bei 578 nm in Küvetten der Schichtdicke 1 cm gegen Wasser gemessen.

An einer Eichkurve ließ sich die Hämoglobinkonzentration aus der Extinktion ablesen.

Hämatokrit

Die Hämatokritwerte wurden durch eine Hämatokritzentrifuge ermittelt.

STATISTIK

In beiden Serien wurden die Mittelwerte $\bar{x}$ und die Standardabweichungen s berechnet.

Die Signifikanzprüfung umfaßte den Vergleich zwischen den Ergebnissen der Prüf- und Kontrollserie und die Änderung der Konzentrationen innerhalb jeder Reihe.

Die Frage, ob sich die Werte zwischen der Prüf- und Kontrollserie am 1., 3., 7., und 21. Tag nach der Abnahme voneinander unterscheiden, wurde auf Signifikanz mit dem U-Test geklärt. - Da Blut für Prüf- und Kontrollserie von denselben Spendern stammte, wurden die Ergebnisse als abhängig voneinander betrachtet (54, 67).

Die Konzentrationsänderungen innerhalb der Kontrollserie bzw. der Prüfserie wurden mit dem Test nach Wilcoxon auf Signifikanz geprüft. Diese Ergebnisse wurden als unabhängig betrachtet (54, 67).

Die Irrtumswahrscheinlichkeit mußte weniger als 5 % betragen.

ERGEBNISSE

Adenosintriphosphat

Am 1. Tag nach der Blutabnahme beträgt der Mittelwert der Kontrollserie 0,57 mMol/l, das Mittel der Prüfserie 0,50 mMol/l. Der ATP-Gehalt der Prüfserie kann mit 88,7 % des ATP-Gehalts in der Kontrollserie angegeben werden. Der Unterschied ist jedoch an diesem ersten Tag nicht signifikant ($p > 0,05$).

In beiden Serien zeigt sich bis zum 3. Tag nach der Abnahme ein ATP-abfall, in der Kontrollserie um 6,2 % auf 0,53 mMol/l, in der Prüfserie um 9,5 % auf 0,46 mMol/l.

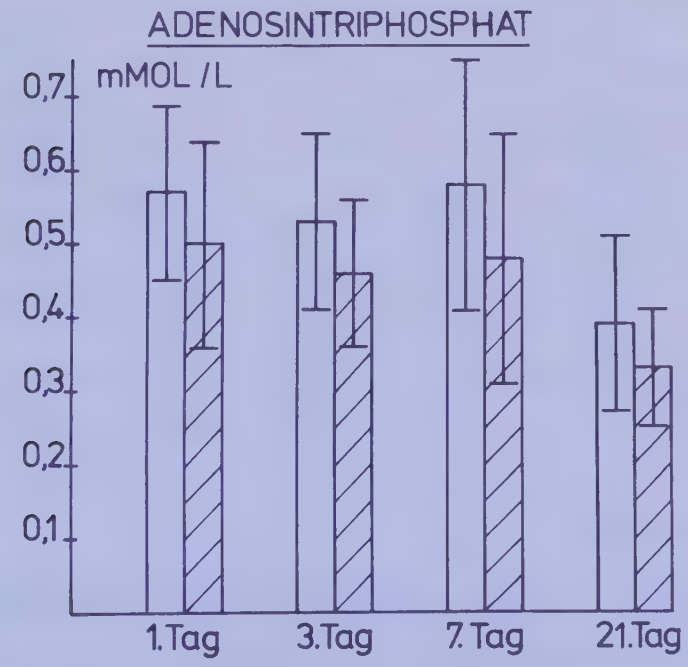

Abbildung 1: Adenosintriphosphat im Vollblut

□ ACD ▨ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Am 7. Tag ist ein Wiederanstieg des ATP zu verzeichnen; in der Kontrollserie um 9,5 % auf 0,58 mMol/l, in der Prüfserie um 5,3 % auf 0,48 mMol/l.

Zu bemerken ist, daß innerhalb der Serien diese Schwankungen nicht signifikant sind ($p = 0,05$). Jedoch hat sich durch die in Prozentangaben verdeutlichte unterschiedliche Kinetik am 3. und 7. Tag ein signifikanter Unterschied zwischen den Serien eingestellt ($p = 0,05$).

Bis zum 21. Tag fällt der ATP-Gehalt in beiden Serien signifikant ab ($p = 0,005$), wobei die Kontrollserie etwas mehr verliert. So ergibt sich am 21. Tag keine signifikante Differenz mehr zwischen den Serien ($p = 0,05$). Die Werte sind 0,39 mMol/l in der Kontrollserie, 0,33 mMol/l in der Prüfserie.

Gesamtbetrachtung:
Ausgehend von Werten im oberen Normbereich fällt der ATP-Gehalt deutlich in beiden Konserven ab. Dabei zeigt sich, daß die Prüfserie schon von Anfang an und insgesamt mehr ATP verliert, während in der Kontrollserie die Hauptabnahme in die Periode zwischen den 7. und 21. Tag fällt. Beträgt der ATP-Gehalt in der Prüfserie am 1. Tag noch 88,7 % des Gehalts in der Kontrollserie, so zeigt sich am 7. Tag nur noch ein Anteil von 82,6 %, am 21. Tag von 83 %.
Gesamter Abfall in der Kontrollserie um 30,6 %, in der Prüfserie um 35,1 % (jeweils bezogen auf den 1. Bestimmungstag).

Adenosindiphosphat

Nach eintägiger Lagerung beträgt der Spiegel in der Kontrollserie 79,8 µMol/l, in der Prüfserie 54,6 µMol/l. Diese Differenz ist hochsignifikant ($p = 0,00001$).

Zum 3. Tag fallen die Werte in beiden Serien ab, statistisch signifikant ($p = 0,05$) jedoch nur in der Prüfserie. (ACD : 73,5 µMol/l, Prüfserie 45,3 µMol/l).

Am 7. Tag ist ein Wiederanstieg zu verzeichnen; in der ACD-Konserve auf 81,6 µMol/l, in der Prüfkonserve 58,4 µMol/l. Hierbei ist der Anstieg nur in der Prüfserie signifikant (p = 0,01).

In beiden Konserven akkumuliert ADP bis zum 21. Tag nach der Blutabnahme. Man findet 133,37 µMol/l in der Kontrollserie, 93,8 µMol/l in der Prüfserie. Der Anstieg ist in beiden Konserven signifikant (p = 0,0001).

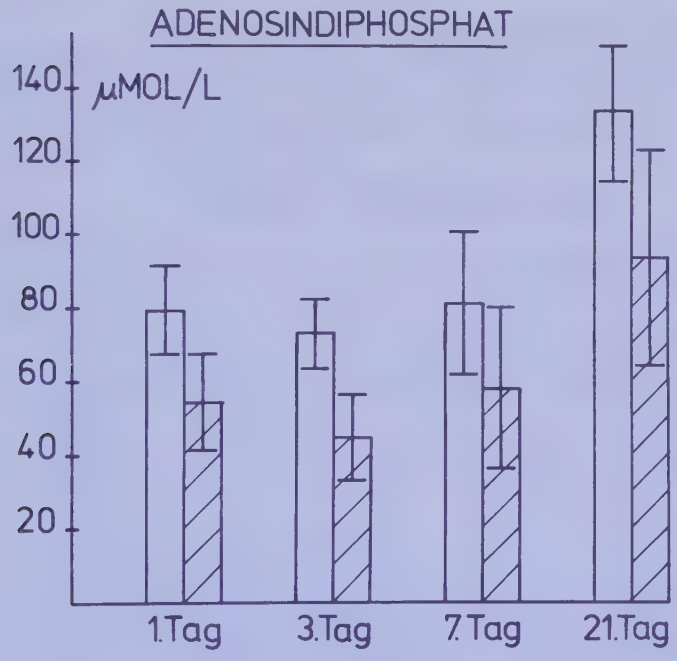

Abbildung 2: Adenosindiphosphat im Vollblut

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Gesamtbetrachtung:

Während ADP in der Kontrollserie bis zum 7. Tag auf einem bestimmten Niveau konstant bleibt (Schwankungen nicht signifikant), nimmt das ADP in der Prüfserie zwischen dem 1. und 3. Tag signifikant ab, zwischen dem 3. und 7. Tag wieder signifikant zu ($p = 0,05$).
Während der ganzen Lagerungsperiode aber liegt der ADP-Spiegel in der Prüfserie bedeutend niederer als in der Kontrollserie.

Adenosinmonophosphat

Die Messungen nach der Konservierungsdauer von einem Tag ergeben 16,3 µMol/l AMP in der Kontrollserie, 14,2 µMol/l in der Prüfserie. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten ist signifikant ($p = 0,05$).

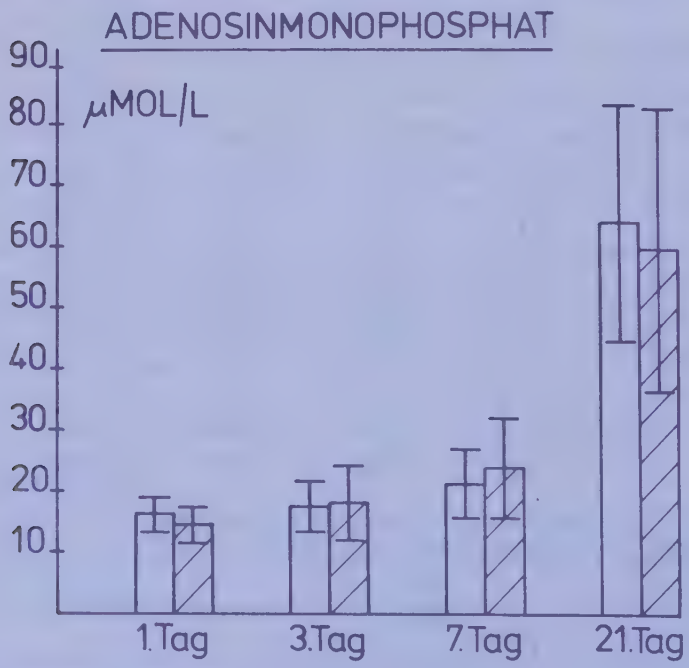

Abbildung 3: Adenosinmonophosphat im Vollblut

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Während AMP in der Kontrollserie nur auf 17,6 µMol/l ansteigt (nicht signifikant), springt der entsprechende Wert in der Prüfserie auf 18,3 µMol/l hoch (signifikant mit p = 0,01). Der verhältnismäßig hohe AMP-Anstieg in der Prüfserie ist die Ursache dafür, daß sich die Konserven ab dem 3. Tag nicht mehr signifikant voneinander unterscheiden (p = 0,05).

Am 7. Tag liegt die Prüfserie mit 23,9 µMol/l leicht über der Kontrollserie mit 21,1 µMol/l. Der Unterschied zum 3. Tag ist in keiner Konserve signifikant (p = 0,05).

Die letzte Bestimmung ergibt in der Kontrollserie 63,9 µMol/l, in der Prüfserie 59,2 µMol/l. Der Anstieg ist in beiden Reihen signifikant (p = 0,0005), während die Differenz der Mittelwerte statistisch nicht verifiziert werden kann (p = 0,05).

Gesamtbetrachtung:
Der Hauptunterschied zwischen den Konserven besteht im schnellen Anstieg des AMP gleich zu Beginn in der Prüfserie. Auch zwischen dem 3. und 7. Tag steigt AMP in der Prüfserie schneller an. Die Kontrollserie zeigt den Hauptzuwachs an AMP in der Periode vom 7. bis 21. Tag.

Anorganisches Phosphat im Serum

Das anorganische Phosphat zeigt am 1. Tag im Serum der Kontrollserie einen Spiegel von 0,98 mMol/l, im Serum der Prüfserie von 0,81 mMol/l. Die Differenz zwischen den Serien ist signifikant (p = 0,001).

Zum 3. Tag steigt der Mittelwert in beiden Konserven an, jedoch ist kein signifikanter Unterschied (p = 0,05) zum 1. Tag nachweisbar. Kontrollserie: 1,0 mMol/l, Prüfserie: 0,850 mMol/l. Auch hier besteht zwischen den Serien ein signifikanter Unterschied (p = 0,001).

Am 7. Tag betragen die Konzentrationen 1,22 mMol/l in der Kontrollserie, 1,07 mMol/l in der Prüfserie. Signifikant ist sowohl der Unterschied zwischen den Konserven (p = 0,01), als auch der Anstieg zum 7. Tag in beiden Reihen (p = 0,0001).

Eine erhebliche Vermehrung des anorganischen Phosphats ist am 21. Tag nachzuweisen. Spiegel in der Kontrollserie : 2,04 mMol/l, in der Prüfserie : 1,84 mMol/l. Auch hier ergibt die Statistik einen signifikanten Unterschied zwischen den Reihen (p = 0,001), einen signifikanten Anstieg (p = 0,0001) in den Reihen, bezogen auf den 7. Tag.

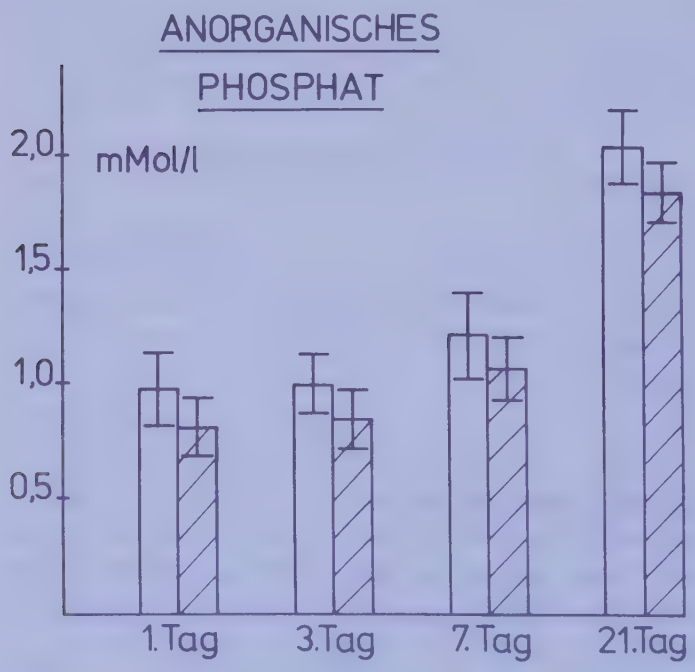

Abbildung 4: Anorganisches Phosphat im Serum

□ ACD ▨ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Gesamtbetrachtung:

Die Kurven verlaufen nahezu parallel, wobei ein hochsignifikanter Unterschied vom ersten bis zum letzten Tag zwischen den verschiedenen Reihen besteht. Innerhalb jeder Reihe ist ein mäßiger Anstieg zum 7. Tag zu verzeichnen, eine erhebliche Zunahme des anorganischen Phosphats jedoch zum 21. Tag.

Natrium im Serum

1. Tag nach der Abnahme: Die Konzentration des Natriums im Serum beträgt in der Kontrollserie 166,2 mMol/l, in der Prüfserie 136,4 mMol/l. Bei der kleinen Streuung der Werte sind diese Konzentrationen hochsignifikant voneinander verschieden ($p = 0{,}000001$).

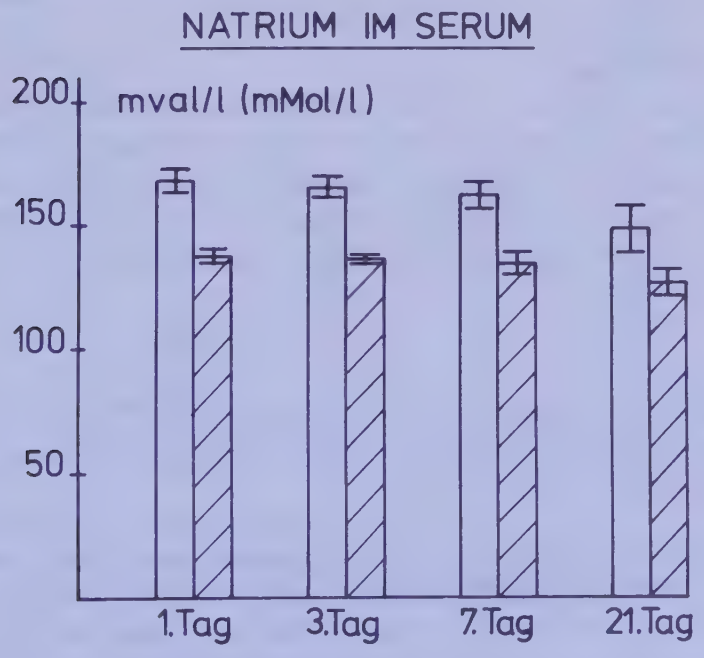

Abbildung 5: Natrium im Serum

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Am 3. Tag ist ein signifikanter Abfall ($p = 0,05$) der Serumkonzentration nur in der Prüfserie festzustellen. Hier beträgt die Konzentration 135,2 mMol/l, während die Kontrollserie mit 164,4 mMol/l gegenüber dem ersten Tag nicht signifikant kleiner geworden ist. Der Vergleich der Mittelwerte ergibt auch hier einen hochsignifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Prüfkonserve ($p = 0,000001$).

In beiden Konserven liegt der Wert am 7. Tag signifikant ($p = 0,05$) unter dem des 3. Tages. Mit 160,7 mMol/l liegt die Kontrollserie hochsignifikant höher als die Prüfserie mit 132,6 mMol/l ($p = 0,000001$).

Eine erheblich kleinere Konzentration findet man am 21. Tag in beiden Konserven. Kontrollserie : 147,3 mMol/l, Prüfserie : 125,4 mMol/l. Signifikanz ergibt sowohl der Abfall in beiden Reihen ($p = 0,005$), als auch die Differenz der Mittelwerte am Bestimmungstag ($p = 0,000001$).

Gesamtbetrachtung:
Auffallend ist, daß die Kontrollserie während der ganzen Zeit beträchtlich höhere Werte zeigt als die Prüfserie. Der Verlauf unterscheidet sich insofern, als die Prüfserie im Gegensatz zur Kontrollserie schon zum 3. Tag einen signifikanten Abfall zeigt, während nach dem 3. Tag die Konzentrationsabnahme in der Kontrollserie jeweils höher ist.

Kalium im Serum

Die gemessenen Kaliumwerte des ersten Tages betragen 5,2 mMol/l (Kontrollserie), 5,1 mMol/l (Prüfserie). Kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten ($p = 0,05$).

In beiden Konserven findet man einen signifikanten Anstieg ($p = 0,0001$) zum 3. Tag. Die Serumkonzentration steigt in der Kontrollserie auf 7,9 mMol/l, in der Prüfserie auf 8,6 mMol/l. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten zeigt keine Signifikanz ($p = 0,05$).

7. Tag : In beiden Serien signifikanter Anstieg (p = 0,0001) gegenüber dem 3. Tag, Unterschied zwischen den Mittelwerten an diesem Bestimmungstag signifikant (p = 0,05). In der Kontrollserie sind 11,4 mMol/l zu messen, in der Prüfserie 12,7 mMol/l.

21. Tag : In beiden Konserven sind weit übernormale Werte festzustellen. 21,4 mMol/l in der Kontrollserie gegenüber 23,8 mMol/l in der Prüfserie und damit signifikanter Unterschied (p = 0,05).

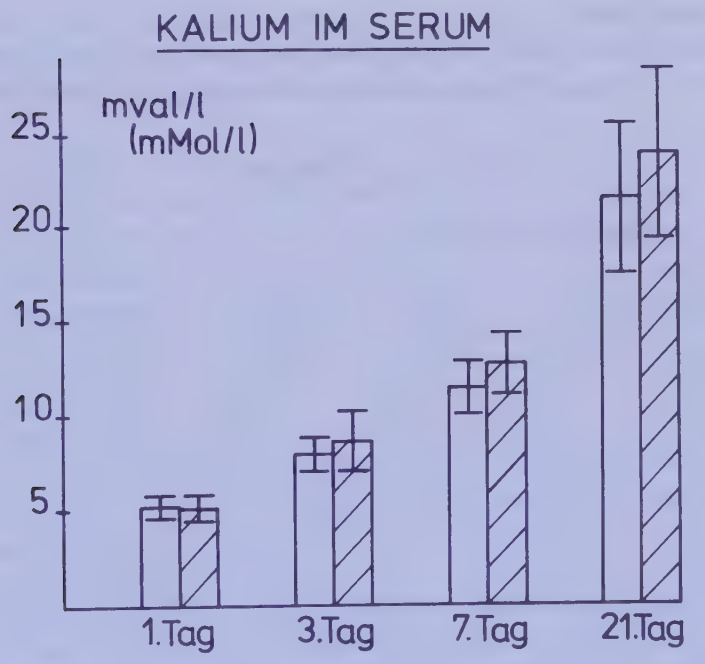

Abbildung 6: Kalium im Serum

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Gesamtbetrachtung:

In beiden Serien beginnt der Kaliumwert schon am ersten Tag zu steigen. Die Prüfserie übertrifft dabei die Kontrollserie ab dem 7. Tag signifikant. Betrachtet man die Geschwindigkeit des Anstiegs, indem man in jeder Meßperiode den Durchschnittswert nimmt, um den der Betrag pro Tag ansteigt, dann zeigt sich, daß am Anfang eine stärkere Zunahme der Konzentration eingetreten ist. Das gilt für beide Serien.

Chlorid im Serum

Der Ausgangswert am 1. Tag beträgt 72,9 mMol/l in der Kontrollserie, 62,0 mMol/l in der Prüfserie. Unterschied hochsignifikant (p = 0,00001).

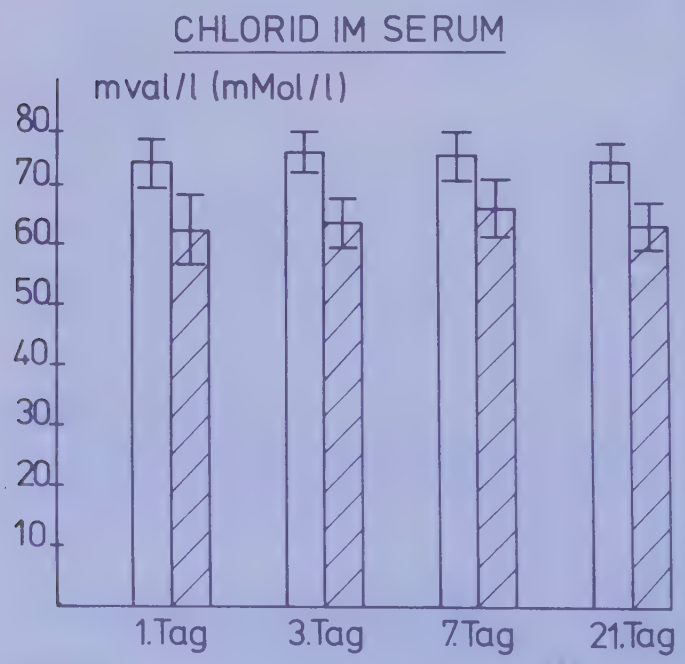

Abbildung 7: Chlorid im Serum

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Zum 3. Tag Chloridanstieg in der Kontrollserie (75,o mMol/l, signifikant (p = 0,05)), Chloridanstieg in der Prüfserie (63,1 mMol/l, nicht signifikant (p = 0,05)). Weiterhin statistisch nachgewiesener Unterschied zwischen den Konserven (p = 0,000001).

Während die Kontrollkonserve mit 74,6 mMol/l am 7. Tag gegenüber dem 3. Tag keinen Unterschied zeigt, findet in der Prüfkonserve ein in dieser Periode signifikanter Anstieg auf 65,8 mMol/l statt (p = 0,05). Differenz dieser Mittelwerte hochsignifikant (p = 0,00001).

21. Tag : Signifikanter Abfall (p = 0,05) in der Kontrollserie um 1,4 mMol/l auf 73,2 mMol/l. Kein signifikanter Unterschied (p = 0,05) in der Prüfserie gegenüber dem 7. Tag mit 62,5 mMol/l.

Gesamtbetrachtung:
Ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Werten der Kontroll- und Prüfserie läßt sich an jedem Bestimmungstag nachweisen. Die Werte pendeln mehr oder weniger signifikant um ein bestimmtes Niveau. Dabei liegen die Werte des 3. und 7. Tages etwas höher.

Magnesium im Serum

1. Tag : Signifikant (p = 0,0001) sich unterscheidende Werte am 1. Tag nach der Abnahme. Die Kontrollserie zeigt 3,2 mMol/l, die Prüfserie 5,8 mMol/l.

3. Tag : Im Vergleich zum 1. Tag haben sich die Werte in keiner Reihe signifikant (p = 0,05) geändert. Man findet in der Kontrollkonserve 3,2 mMol/l, in der Prüfkonserve 6,2 mMol/l, und damit ist die Differenz zwischen den Werten hochsignifikant (p = 0,00001).

Signifikanter Anstieg (p = 0,05) zum 7. Tag in der Kontrollserie : 3,4 mMol/l. Keine nachweisbare Veränderung in der Prüfserie mit 5,8 mMol/l. Weiterhin hochsignifikante Mittelwertsdifferenz (p = 0,00001).

Mit 3,4 mMol/l ändert sich die Kontrollserie zum 21. Tag nicht. Die Prüfserie zeigt zum 21. Tag einen Abfall ($p = 0,05$) der Magnesiumkonzentration auf 5,4 mval/l. Die Mittelwerte sind auch hier deutlich verschieden ($p = 0,00001$).

Gesamtbetrachtung:

Die Prüfserie enthält im Serum beträchtlich mehr Magnesium, und sie ändert sich hinsichtlich des Betrags nur zum 21. Tag signifikant. In der Kontrollserie liegt der Wert im Normbereich und schwankt zwischen dem 3. und 7. Tag signifikant. Grundsätzlich bestehen die Niveauunterschiede in der ganzen Lagerungszeit.

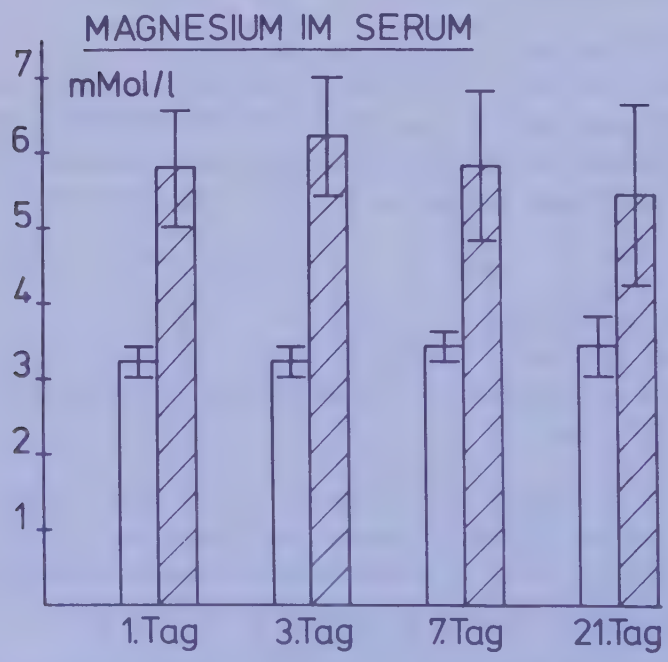

Abbildung 8: Magnesium im Serum

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Hämoglobin im Serum

Am 1. Tag nach der Abnahme beträgt der Serumwert in der Kontrollserie 22,3 mg%, in der Prüfserie 25,5 mg%. Eine statistisch verifizierbare Differenz besteht nicht (p = 0,05).

3. Tag : Der Wert der Kontrollserie unterscheidet sich mit 21,8 mg% nicht signifikant vom Ergebnis des 1. Tages. Die Prüfserie jedoch weist einen Hämoglobinanstieg auf : 94,4 mg% (signifikant p = 0,005). Die Mittelwerte unterscheiden sich deutlichst (p = 0,001).

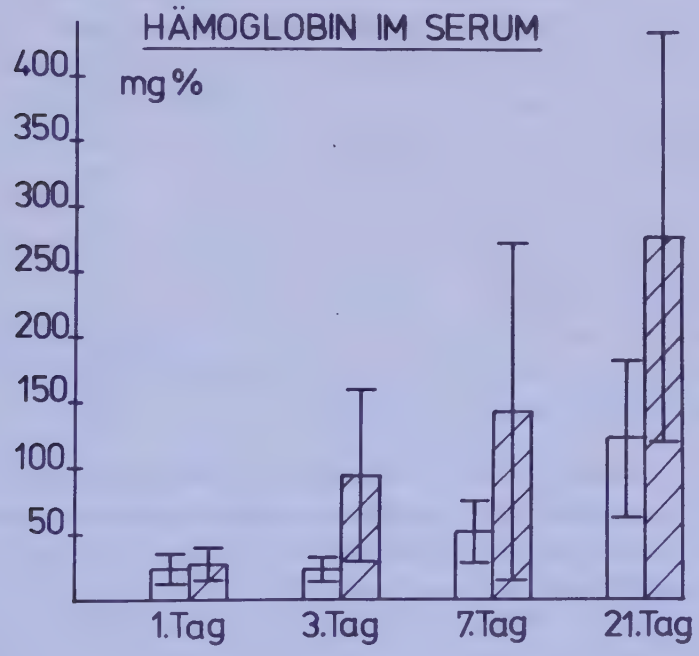

Abbildung 9: Hämoglobin im Serum

□ ACD ▨ ACD und Magnesium-L-Aspartat

In beiden Konserven gegenüber dem 3. Tag ein Hämoglobinanstieg, signifikant (p = 0,0001) in der Kontrollserie, nicht signifikant (p = 0,05) in der Prüfserie wegen der großen Streuung der Werte : 51,8 mg% in

der Kontrollserie, 143,5 mg% in der Prüfserie. Die Mittelwerte zeigen einen hochsignifikanten Unterschied (p = 0,05).

Eine starke Hämoglobinanreicherung im Serum findet man am 21. Tag vor. 122,5 mg% in der Kontrollserie, 277,1 mg% in der Prüfserie. Sowohl die Anstiege in beiden Serien sind signifikant (p = 0,0001 in der Kontrollserie, p = 0,05 in der Prüfserie), als auch die Differenz der Mittelwerte (p = 0,01).

Gesamtbetrachtung:
Schon am 3. Tag wird deutlich, daß die Hämolyse in der Prüfserie viel rascher fortschreitet und erheblich größere Werte zeigt als in der Kontrollserie. Besonders bemerkenswert ist der Sprung zwischen Tag 1 und Tag 3. Die Streuung der Werte ist in der Prüfserie viel deutlicher ausgeprägt als in der Kontrollserie. Die höchste Differenz findet man am 3. Tag.

Hämatokrit

1. Tag : In der Kontrollserie mißt man 43,4 %, in der Prüfserie 32,3%. Hochsignifikanter Unterschied in der Größe des Hämatokrit zwischen den Serien (p = 0,000001).

Am 3. Tag in keiner Konserve ein signifikantes Abweichen vom Wert des 1. Tages. Mit 43,6 % und 32,3 % wird der signifikante Unterschied zwischen den Konserven wiedergefunden (p = 0,00001).

Auch am 7. Tag ist keine gesicherte Veränderung in der Größe des Hämatokritwertes nachzuweisen. 43,0 % in der Kontrollserie, 31,3 % in der Prüfserie.

Gegenüber dem 7. Tag in der Prüfserie signifikanter Unterschied (p = 0,05), nicht in der Kontrollserie. Die Kontrollserie zeigt 42,2 %, die Prüfserie 30,0 %.

HÄMATOKRIT

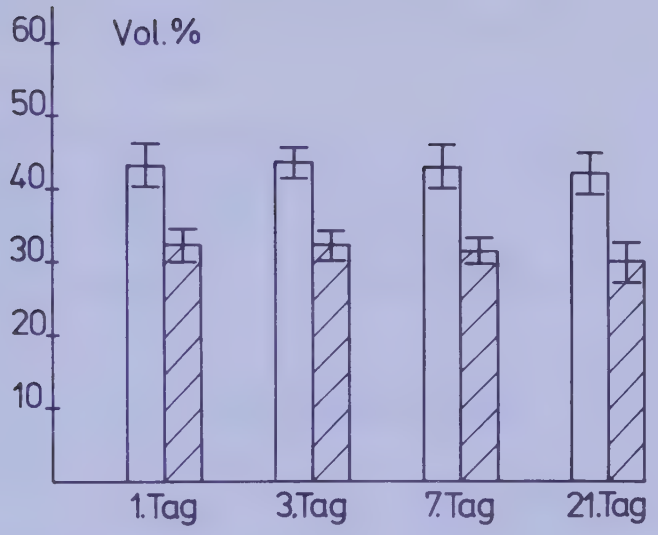

Abbildung 10: Hämatokrit

□ ACD ▨ ACD und Magnesium-L-Aspartat

Gesamtbetrachtung:

Während sich die Hämatokritwerte im Laufe der Konservierung nur wenig ändern, ist das verschiedene Niveau des Betrages von Bedeutung, denn es wurde ja Blut von denselben Spendern in etwa gleichen Mengen entnommen.

Abfüllmenge des Blutes, gemessen in Gramm

1. Tag : Durchschnitt in der Kontrollserie 48,0 gr, in der Prüfserie 45,8 gr. Kein signifikanter Unterschied in den Abfüllmengen, gemessen in Gramm ($p = 0,05$).

3. Tag : Kontrollserie zeigt 48,2 gr, Prüfserie 43,7 gr.

7. Tag : 49,3 gr in der Kontrollserie, 46,6 gr in der Prüfserie.

21. Tag : Die Abfüllmenge in der Kontrollserie beträgt im Durchschnitt 48,9 gr, die entsprechende Menge in der Prüfserie 45,8 gr.

Gesamtbetrachtung:
Innerhalb der Kontrollserie wurden vergleichbare Blutmengen eingefüllt. In der Prüfserie ergibt sich zwischen dem 3. und 7. Tag eine signifikante Schwankung, die in der Hauptsache auf den etwas niederen Wert in der Konserve des 3. Tages zurückzuführen ist. Der Unterschied in den Werten zwischen dem 3. und 7. Tag beträgt 2,9 gr.

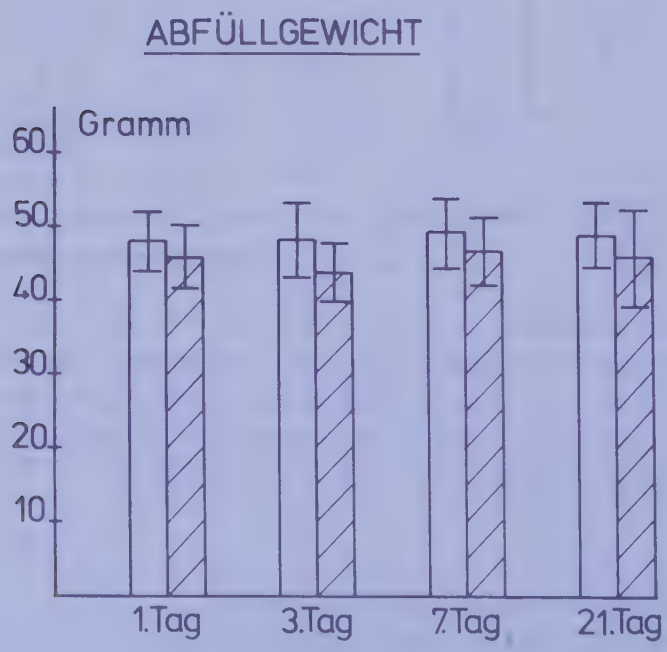

Abbildung 11: Abfüllmenge des Blutes

☐ ACD ☒ ACD und Magnesium-L-Aspartat

MESSERGEBNISSE

			1. Tag		3. Tag	
			Kontr serie	Prüf serie	Kontr serie	Prüf serie
ATP	mMol/l	x =	0,57	0,50	0,53	0,46
		s =	0,12	0,14	0,12	0,10
ADP	µMol/l	x =	79,8	54,6	73,5	45,3
		s =	12,0	12,9	9,4	11,6
AMP	µMol/l	x =	16,3	14,2	17,6	18,3
		s =	2,8	2,8	4,1	6,0
anorgan. Phosphat	mMol/l	x =	0,98	0,81	1,00	0,85
		s =	0,16	0,13	0,13	0,13
Natrium im Serum	mMol/l	x =	166,2	136,4	164,4	135,2
		s =	4,6	3,5	4,2	2,0
Kalium im Serum	mMol/l	x =	5,2	5,1	7,9	8,6
		s =	0,6	0,7	0,9	1,6
Chlorid im Serum	mMol/l	x =	72,9	62,0	75,0	63,1
		s =	4,2	5,7	3,4	4,0
Magnesium im Serum	mMol/l	x =	3,2	5,8	3,2	6,2
		s =	0,2	0,8	0,2	0,8
Hämoglobin im Serum	mg %	x =	22,3	25,5	21,8	94,4
		s =	11,7	12,4	9,7	64,5
Hämatokrit	Vol. %	x =	43,4	32,3	43,6	32,3
		s =	3,0	2,3	2,2	2,0
Abfüllgewicht	Gramm	x =	48,0	45,8	48,2	43,7
		s =	4,1	4,3	5,1	4,1

Mittelwerte und Standardabweichungen, gemessen am 1. und 3. Tag nach der Blutabnahme (21 Spender)
Kontrollserie : ACD - Stabilisator der Formel A
Prüfserie : ACD - Stabilisator der Formel A unter Zusatz von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung

ATP, gemessen im Vollblut
ADP, gemessen im Vollblut
AMP, gemessen im Vollblut
Anorganisches Phosphat, Konzentration im Serum
Natrium, Konzentration im Serum
Kalium, Konzentration im Serum
Chlorid, Konzentration im Serum
Magnesium, Konzentration im Serum
Hämoglobin, Konzentration im Serum
Hämatokrit
Abfüllgewicht der Flaschen

MESSERGEBNISSE

			7. Tag		21. Tag	
			Kontr serie	Prüf serie	Kontr serie	Prüf serie
ATP	mMol/l	x =	0,58	0,48	0,39	0,33
		s =	0,17	0,17	0,12	0,08
ADP	µMol/l	x =	81,6	58,4	133,4	93,8
		s =	19,7	22,0	18,5	29,6
AMP	µMol/l	x =	21,1	23,9	63,9	59,2
		s =	5,6	8,3	19,3	22,9
anorgan. Phosphat	mMol/l	x =	1,22	1,07	2,04	1,84
		s =	0,19	0,14	0,16	0,13
Natrium im Serum	mMol/l	x =	160,7	132,6	147,3	125,4
		s =	5,4	4,3	9,5	5,0
Kalium im Serum	mMol/l	x =	11,4	12,7	21,4	23,8
		s =	1,4	1,6	4,0	4,5
Chlorid im Serum	mMol/l	x =	74,6	65,8	73,2	62,5
		s =	4,1	4,8	3,2	4,0
Magnesium im Serum	mMol/l	x =	3,4	5,8	3,4	5,4
		s =	0,2	1,0	0,4	1,2
Hämoglobin im Serum	mg %	x =	51,8	143,5	122,5	277,1
		s =	23,5	128,6	61,0	157,2
Hämatokrit	Vol. %	x =	43,0	31,3	42,2	30,0
		s =	3,0	1,9	2,9	2,7
Abfüllgewicht	Gramm	x =	49,3	46,6	48,9	45,8
		s =	4,8	4,7	4,5	6,7

Mittelwerte und Standardabweichungen, gemessen am 7. und 21. Tag nach der Blutabnahme (21 Spender)
Kontrollserie : ACD – Stabilisator der Formel A
Prüfserie : ACD – Stabilisator der Formel A unter Zusatz von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung

ATP, gemessen im Vollblut
ADP, gemessen im Vollblut
AMP, gemessen im Vollblut
Anorganisches Phosphat, Konzentration im Serum
Natrium, Konzentration im Serum
Kalium, Konzentration im Serum
Chlorid, Konzentration im Serum
Magnesium, Konzentration im Serum
Hämoglobin, Konzentration im Serum
Hämatokrit
Abfüllgewicht der Flaschen

KRITIK DER METHODIK

Die Analysen wurden zum Teil mit Vollblut, zum Teil mit Serum ausgeführt.

1. Messungen im Vollblut

Die Parameter, die im Vollblut gemessen worden sind (ATP, ADP, AMP), ergeben im wesentlichen den Gehalt der Substanzen in den Zellen. Erstens sind die Zellen für diese Substanzen nicht permeabel, zweitens werden die Nucleotide im Serum rasch zerstört (12, 49).

Bei der Betrachtung der Ergebnisse stellt man fest, daß in die Prüfflaschen durchschnittlich etwas weniger Blut eingefüllt worden ist. Mit der folgenden Berechnung ist geprüft worden, ob sich durch diesen unterschiedlichen Blutgehalt an den Resultaten im Prinzip etwas ändert:

Nimmt man als durchschnittliches spezifisches Gewicht von Blut die Größe = 1,06 gr/ccm (18), dann kann aus der gewogenen Abfüllmenge der Blutgehalt in Milliliter berechnet werden:

Volumen = Gewicht / spezifisches Gewicht

Somit befindet sich in einer ACD - Flasche ein Gesamtvolumen, das sich zusammensetzt aus dem errechneten Blutvolumen (s.o.) plus 7,5 ml Stabilisatorflüssigkeit.

Die gemessenen Konzentrationen beziehen sich auf diese Volumen. Nun kann die Masse der betreffenden Substanz berechnet werden.

Masse = gemessene Konz. x Gesamtvolumen

Bezieht man die Masse der Substanz auf das Volumen des abgefüllten Blutes (Berechnung s.o.), denn nur hier verteilt sich eine intrazellulär sich befindende Substanz, dann ergibt sich die wahre Konzentration aus der Formel

Konz. = Masse / Blutvolumen

Entsprechend gilt für die Prüfserie:

Volumen des Blutes = Gewicht / spezifisches Gewicht

Gesamtvolumen = Blutvolumen + 10,5 ml Stabilisator

Aus der Konzentration, gemessen im Gesamtvolumen, errechnet sich die Menge der Substanz nach

Menge = Konz. (gemessen) x Gesamtvolumen

Diese Menge wird auf das berechnete Blutvolumen bezogen, und es ergibt sich die wahre Konzentration der Substanz im Vollblut aus

Konz. = Menge / errechnetes Blutvolumen.

Führt man diese Berechnung für die Parameter ATP, ADP und AMP durch, so zeigt sich, daß im Prinzip keine Änderungen der Ergebnisse festzustellen sind, weder in der Tendenz noch in den Größenverhältnissen. Es wurde im Gegenteil die aus den gemessenen Werten zu entnehmende Entwicklung noch deutlicher sichtbar. - Es ist deshalb nicht notwendig, die durchgeführten Berechnungen hier alle aufzuführen.

2. Messungen im Serum

Der enorme Hämatokritunterschied macht deutlich, daß sich eine unterschiedliche Serummenge in den Konserven ergibt. Die Ursachen dieser Hämatokritdifferenz werden in der Diskussion besprochen. Hier ist aber darauf hinzuweisen, daß die unterschiedliche Konzentration einer Substanz im Serum zunächst zum größten Teil auf dem unterschiedlichen Volumen beruht, in dem sich die Substanz verteilt. Nach der Beziehung Konzentration = Menge / Volumen ist die Konzentration umgekehrt proportional zum Verteilungsvolumen.

Für den Kliniker ist, zum Beispiel das Kalium betreffend, die Konzentration im Serum entscheidend. Will man aber einen wahrheitsgemäßen Einblick in die Abläufe in der Konserve gewinnen, dann muß auch hier ein Rechenexperiment durchgeführt werden.

Der Hämatokritwert wird aus dem Gesamtvolumen bestimmt. Das Volumen des Serums beträgt:

Gesamtvolumen x (100 - Hämatokrit) = Serumvolumen

Die Menge einer Substanz im Serum wird errechnet aus

Menge = Konzentration x Serumvolumen

Betrachtet man stellvertretend für alle Substanzen, die im Serum gemessen wurden, das Natrium, so zeigt sich folgendes: Während die gemessenen Konzentrationen in Prüf- und Kontrollserie sich deutlich voneinander unterscheiden, ergibt die Berechnung der absoluten Natriummengen, daß der Gehalt an Natrium im Serum der Prüfserie beinahe gleich dem Natriumgehalt im Serum der Kontrollserie ist.

Soweit die Absolutmenge einer Substanz in der Diskussion von Bedeutung ist, wird an entsprechender Stelle darauf eingegangen werden.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Diskussion ist in 3 Abschnitte gegliedert.

Abschnitt 1 umfaßt den Versuch, die Verschiedenheit der Ergebnisse in Kontroll- und Prüfserie durch bekannte und beschriebene Gesetzmäßigkeiten zu erklären.

In Abschnitt 2 folgen theoretische Überlegungen zur Aktivierung von Enzymen durch Metalle. Danach wird die Rolle des Magnesium - L - Aspartats bei der Blutkonservierung diskutiert und mit den Ergebnissen in Einklang gebracht.

Abschnitt 3 stellt die wichtigsten Ergebnisse noch einmal heraus und knüpft die Beziehung zur klinischen Anwendung von Magnesium - L - Aspartat, klärt im besonderen, ob die Zusetzung der hier verwendeten Lösung für die Blutkonservierung in Betracht kommt.

Abschnitt 1:

Die Diskussion der Ergebnisse geht aus von den Grundparametern H ä m a t o k r i t und p H - W e r t. Es folgt das zentrale Thema dieser Arbeit, der E n e r g i e s t o f f w e c h s e l. Im Rahmen dessen wird auf diejenigen Abläufe eingegangen, die mit dem Stoffwechsel der energiereichen Phosphate in enger Verbindung stehen: die M e m b r a n p u m p e n f u n k t i o n für E l e k t r o l y t e, die G l y k o l y s e und die S t r u k t u r e r h a l t u n g der Zellen.

HÄMATOKRIT

Bei der Besprechung der Ergebnisse ist als herausragendes Resultat der erhebliche Hämatokritunterschied zwischen der Kontrollserie und der Prüfserie zu nennen. Da bei jeder Blutabnahme jeweils Blut von

demselben Spender für Prüf- und Kontrollserie abgefüllt wurde, muß dieser Hämatokritunterschied auf Prozesse in vitro zurückgeführt werden.

Der Hämatokrit in der ACD - Konserve deckt sich mit den Angaben in der Literatur: Während der Lagerung tritt entweder keine Änderung des Ausgangswertes ein, oder der aktuelle Wert steigt sogar an. Die Zunahme des Hämatokritwertes wird mit einer Volumenzunahme der zellulären Elemente erklärt (13, 44a). So soll in einer ACD - Konserve das korpuskuläre Volumen vom Abnahmetag bis zum 20. bis 40. Tag nach der Abnahme 113 % des Normalwertes betragen (44a), wobei das Anschwellen der Zellen auf physikalische Vorgänge zurückgeführt wird (44a).

Die Prüfserie zeigt das entgegengesetzte Verhalten. Zum einen liegt der aktuelle Wert deutlich unter der Norm, zum andern zeigt sich sogar eine Verringerung dieses niederen Wertes im Laufe der Konservierungszeit (s.o.).

Die Tatsache, daß der niedere Wert bereits am 1. Tag nach der Abnahme besteht, verweist auf physikalische Vorgänge : Es muß Flüssigkeit aus den Zellen ausgetreten sein. Flüssigkeit tritt dann aus den Zellen aus, wenn das umgebende Medium hyperosmolar ist und die Permeabilität der Zellmembran für die verantwortliche Substanz kleiner ist als die Permeabilität für Wasser.

Die gemessene Osmolarität in der ACD - Lösung beträgt 375 mosmol/l, in der Prüfserie 550 mosmol/l. Nach der Durchmischung mit dem Blut stellt sich in der Kontrollserie ein errechneter Wert von 320 mosmol/l ein, in der Prüfserie von 366,15 mosmol/l (Berechnung s.u.). - Damit ist die erste oben angegebene Bedingung erfüllt.

Wasser und kleine Anionen durchqueren die Zellmembran leicht (44a, 52), sie befinden sich im thermodynamischen Gleichgewicht über der

Membran (52). Auch für die Glucose ist die Permeabilität beträchtlich (44a). Für Kationen jedoch ist sie äußerst gering (31, 41, 44a, 52). Ionenfluxe sind nicht obligat mit einer Wasserverschiebung verbunden, denn sie tauschen sich Kation gegen Kation, Anion gegen Anion aus (44a).

Der Unterschied zwischen der Kontroll- und Prüfserie ist demnach wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß das Magnesium - L - Aspartat ein anderes Verhalten als die Glucose zeigt, denn nur durch diesen Zusatz unterscheiden sich die Konservierungsarten im Ansatz. Die Permeabilität für Magnesium - L - Aspartat scheint verhältnismäßig gering zu sein. So wirkt sich die osmotische Aktivität in der Weise aus, daß das gut bewegliche Wasser (s.o.) aus der Zelle ausströmt. Dieser wesentliche Unterschied zwischen der Glucose und dem Magnesium - L - Aspartat ist sicher zum großen Teil darauf zurückzuführen, daß Magnesium - L - Aspartat aktiv von den Zellen aufgenommen werden muß. - Über aktive Transportvorgänge in der Konserve wird an anderer Stelle gesprochen werden.

Diese These kann gestützt werden durch andere Meßwerte. Geht man davon aus, daß Kationen nur schwer die Membran durchqueren und berücksichtigt man die Beziehung Konzentration = Masse / Volumen, dann ist mit der Wasserverschiebung eine Konzentrationsänderung der Kationen im Serum zu erwarten, denn mit steigendem Volumen wird die Konzentration gemäß der obigen Gleichung geringer. Betrachtet man die gemessenen Natrium-im-Serum-Mittelwerte des 1. Bestimmungstages, findet man in der Kontrollserie 166,17 mMol/l, und in der Prüfserie 136,39 mMol/l. Werden die Mengen des Natriums berechnet (s.o.), dann findet man keinen Unterschied. Dieser Konzentrationsunterschied des Natriums zwischen den Serien bleibt während der ganzen Lagerungszeit nahezu konstant, was als Spiegelbild des ebenfalls konstanten Hämatokritunterschieds zu sehen ist.

Die Wasserverschiebung ist mit Konsequenzen verbunden, deren Besprechung in späteren Abschnitten folgen wird.

Berechnung der Osmolarität:

Kontrollserie: Osmolarität der ACD-Lösung (gemessen): 375 mosm/l,
in 7,5 ml ACD-Lösung:
375 x 7,5 / 1000 = 2,8 mosm.

Osmolarität von Blut: 310 mosm/l (18),
in 48 gr. Blut (entsprechend 38,4 gr Wasser (44b)):
310 x 38,4 / 1000 = 11,9 mosm.

Osmolarität im Gemisch: (11,9 + 2,8) mosm/
(7,5 + 38,4) ml = 320,3 mosm/l

Prüfserie: Osmolarität der Prüflösung: 550 mosm/l,
in 10,5 ml: 550 x 10,5 / 1000 = 5,8 mosm,
in 45 gr. Blut (entsprechend 36,6 gr Wasser (44b)):
310 x 36,6 / 1000 = 11,4 mosm.

Osmolarität im Gemisch: (11,4 + 5,8) mosm/
(10,5 + 36,6) ml = 365 mosm/l

Initiale Blutkonzentration 310 mosm/l pro Liter Wasser im Blut, bei einem Wassergehalt von 0,80 gr./gr. Blut (44b).

PH - WERT

Ein entscheidender Parameter für die Beurteilung von Stoffwechselvorgängen ist der pH-Wert. Vergleichsmessungen zwischen den pH-Werten in einer ACD - Konserve und in einer mit Magnesium - L - Aspartat versetzten ACD - Konserve (Formeln mit den oben angegebenen identisch) zeigen, daß der Magnesium - L - Aspartat - Zusatz mit einer Erniedrigung des pH-Wertes verbunden ist (30). KLÄGER hat für den 1. Tag nach der Gewinnung des Konservenblutes in einer reinen ACD - Konserve den durchschnittlichen pH-Wert 6,70 gemessen,

in einer mit Magnesium - L - Aspartat versetzten ACD - Konserve den Wert 6,53 (30). Diese Differenz war hochsignifikant. Nachfolgende Messungen am 3., 7., 21. Tag ergaben, daß der pH - Wert in beiden Konserven stetig signifikant abgefallen war, wobei die Differenz der jeweiligen Tageswerte zwischen den verschiedenen Konserven dem Unterschied der gemessenen Werte des 1. Bestimmungstages entsprach (30). Dieser parallele Verlauf der Kurven deutet darauf hin, daß in beiden Konserven die pH - Veränderungen während der Konservierungszeit durch die gleichen Vorgänge hervorgerufen werden, der Unterschied zwischen den Serien aber auf verschiedenen Ausgangsbedingungen beruht.

Der Unterschied kann sich deshalb zeigen, weil in beiden Konserven die Pufferkapazität derart überschritten ist, daß der physiologische pH - Wert nicht mehr gehalten werden kann. Dieser Effekt ist aus in der Einleitung genannten Gründen bis zu einem gewissen Grade erwünscht (Hemmung der Alterungsprozesse, der Glykolyse, der ATP verbrauchenden Reaktionen).

Eine Ursache des Unterschieds im Ausgangswert ist der verschiedene pH - Wert der Stabilisatoren. Es wurde im ACD - Stabilisator ein pH von 5,2 gemessen, im ACD + Magnesium - L - Aspartat - Stabilisator von 4,9.

Der pH - Abfall während der Konservierungszeit wird in der Literatur durch die Ansammlung saurer Metabolite erklärt (25, 44a, 57, 65).

KLÄGER hat die pH - Werte im Vollblut gemessen (30). Die ermittelten Größen liegen von Anfang an unter denen, die in der Literatur angegeben werden für den Zeitpunkt nach der Durchmischung des Blutes mit dem Stabilisator (25, 59). Jedoch muß dabei berücksichtigt werden, daß der Stoffwechsel der Konserve schon einen Tag lang im geschlossenen System abgelaufen ist. - Die intrazellulären pH - Werte wurden nicht erfaßt. Jedoch muß angenommen werden, daß auch intrazellulär eine Ansäuerung sich einstellt, denn die Zelle steht mit dem sauren

Medium in ständiger Auseinandersetzung. CRANDALL beschreibt, wie in Zellen, suspendiert in NaCl bei pH = 7,2, die in ein Medium mit pH = 3,42 eingebracht werden, sofort die Permeabilität für Hydroxyl-Ionen und Chloridionen größer wird (10).

Auch andere Autoren berichten, daß die Permeabilität für Anionen allgemein mit fallendem pH - Wert steigt, für Kationen dagegen geringer wird (31, 41). Chlorid- und Hydroxyl- ionen haben die gleiche Ladung und etwa den gleichen Ionenradius (10). - Somit stellt sich zunächst dadurch ein neues Gleichgewicht ein, daß Hydroxylionen in den extrazellulären Raum, Chloridionen in die Zellen diffundieren (10). Dabei bleiben aber Wasserstoffionen in der Zelle zurück. Sie werden durch die Membran festgehalten (10). Diese Vorgänge sind vom Stoffwechsel unabhängig, gehorchen dem Konzentrationsgradienten und dem transmembranösen Potential und laufen ab bis zur Einstellung eines DONNAN - Gleichgewichts (31, 41). - Physikalische Vorgänge besitzen einen Q - 10 - Wert von 1,0 - 1,3, doch da die Konserve nur langsam abkühlt, diese beschriebenen Veränderungen sofort eintreten (10), dürfte dieser Temperaturfaktor hierbei keine Rolle spielen. Nach LACELLE stellt sich bei Änderungen des Mediums zunächst eine Anionenäquilibration ein, die dann ihrerseits für die Kationen die Bedingungen der Potentialdifferenz verändert (31).

Der Normalwert für Chlorid im Plasma ist nach RICHTERLICH 104,0 mMol/l (49). Die in den Versuchen gemessenen Werte liegen deutlich darunter. Auch hier stellt man innerhalb der Reihen nur Änderungen (wenn auch zum Teil signifikante) um ein bestimmtes, während der ganzen Konservierungszeit konstantes Niveau fest. Dieses Niveau besteht schon vom ersten Tag an. Es unterscheidet sich zwischen den Serien im Betrag. Das deutet wiederum auf sofortige Reaktionen nach der Blutgewinnung hin, was sich mit der oben angegebenen Literatur deckt.

Die Chloridkonzentration liegt in der Prüfserie niedriger. Das ist zum großen Teil auf die große Verdünnung des extrazellulären Chloridgehalts zurückzuführen, analog der Verdünnung extrazellulärer Kationen. Doch gemäß den oben beschriebenen Vorgängen dürfte der niedrigere Chloridgehalt auch auf Austauschvorgängen mit den Hydroxylionen beruhen. - Die Berechnung ergibt am 1., 7., 21. Tag eine etwas größere Menge an Chlorid in der Prüfserie.

Der pH - Unterschied in den Serien gewinnt seine Bedeutung in der unterschiedlichen Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge. Darauf wird an den entsprechenden Stellen eingegangen werden.

ENERGIESTOFFWECHSEL

In der Diskussion des Energiestoffwechsels soll zunächst versucht werden, einen Einblick in die Veränderungen der Konzentrationen von ATP, ADP und AMP zu bekommen. Darauf folgt im Rahmen der Erörterung der ATP - Spiegel die Besprechung der Elektrolytbilanz und der Hämolyse.

Nucleotidbilanz:

Aus der Feststellung von Mittelwerten können nur bedingt eindeutige Aussagen über diejenigen Abläufe gemacht werden, als deren Resultat der Spiegel der verschiedenen Nucleotide gemessen worden ist. Zum einen sind Messungen am 1., 3., 7., 21. Tag nur Momentaufnahmen eines komplexen Geschehens, zum andern ist das Nucleotidsystem bei vielen, sehr unterschiedlichen Stoffwechselvorgängen beteiligt in seiner Funktion als System, das Phosphat von einer energiereichen Phosphatverbindung übernimmt und an energieärmere überträgt (32). Zusätzlich stehen die Nucleotide durch mannigfache Stoffwechselwege in steadystate - Verhältnissen untereinander in Beziehung, wobei das Verhältnis der Konzentrationen zueinander das Kommunikationsmittel zwischen ATP - verbrauchenden und ATP - regenerierenden Reaktionen ist (32). Anorganisches Phosphat ist im Serum gemes-

sen worden und damit für die Reaktionen in den Zellen wenig repräsentativ. Der Austritt des anorganischen Phosphats aus den Zellen gehorcht zudem eigenen Gesetzen (6, 15, 44a).

Wie die Ergebnisse zeigen, bleibt bei beiden Konservierungsarten der ATP - Spiegel bis zum 7. Tag im ganzen konstant. Das bedeutet, daß die ATP - Synthese im unteren Teil der anaeroben Glykolyse den ATP-Verbrauch kompensiert.

Die Vorstufe des ATP ist das ADP. Folglich müßte das quantitativ ähnliche Verhalten im ATP - Spiegel auch im ADP - Gehalt der verschiedenen Konserven zu sehen sein, wenn sich andere, ADP - verbrauchende Reaktionen nicht sehr voneinander unterscheiden. Doch hier stellt man fest, daß die ADP - Konzentration in der Prüfserie während der ganzen Zeit hochsignifikant niedriger ist als in der Kontrollserie. Wäre ATP in dieser Prüfserie höher, wäre der Unterschied erklärlich. Doch ATP zeigt ein anderes Verhalten. - Die Möglichkeit, daß zusätzlich entstandenes ATP sofort verbraucht wird, ist unwahrscheinlich, denn das Abbauprodukt des ATP ist ja wiederum hauptsächlich ADP. Der ADP - Spiegel ist demnach in der Prüfserie stärker abgesunken als es der ATP - Synthese entspricht.

Eine wesentliche Ursache des niederen ADP - Spiegels in der Prüfserie ergibt sich aus dem unterschiedlichen Verhalten der Glykolyse in den beiden Konserven.

Betrachtet man die Glykolysemessungen, die KLÄGER ausgeführt hat (30), dann fällt auf, daß vom ersten bis zum dritten Tag in der ACD - Serie Glucose im Vollblut signifikant abgenommen hat, während 2,3 - DPG nicht signifikant weniger geworden ist (30). In der Prüfserie hingegen konnte KLÄGER keinen signifikanten Glucoseabfall feststellen, aber das 2,3 - DPG hatte signifikant abgenommen (30). Entscheidend ist aber, daß die Endprodukte der Glykolyse, Pyruvat und Lactat, nur wenig voneinander verschieden sind (30). Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß zwischen dem 1. und 3. Tag in der Kontrollserie

der größte Teil des Pyruvats und Lactats aus der Glucose stammt, in der Prüfserie dagegen aus der 2,3 - DPG - Verstoffwechselung.

Wenn aber der obere Teil der Glykolyse einen geringen Durchsatz hat, wird wenig ATP zu ADP dephosphoryliert. Das bedeutet rein rechnerisch zunächst ATP - Gewinn und ADP - Verlust. Dagegen wird im unteren Teil der Glykolyse ATP gewonnen und für dessen Synthese ADP verbraucht. Die stärkere, wenn auch nicht signifikante ATP - Abnahme in der Prüfserie könnte dadurch bedingt sein, daß eben durch die Verstoffwechselung des 2,3 - DPG nur einmal ATP aus ADP entsteht. - Eine Stütze hat dieser Erklärungsversuch in der Tatsache, daß bei niederem pH - Wert die Hexokinase gehemmt wird, während die 2,3 - Diphosphoglyceratase aktiv ist (16, 44a, 47, 59).

Wenn man das AMP miteinbezieht, ergeben sich noch andere Erklärungsmöglichkeiten. Auffallend ist, daß AMP in der Prüfserie schon zwischen dem 1. und 3. Tag signifikant ansteigt. Ein Aufbau von AMP durch Phosphorylierung von Nucleotidvorstufen (7a, 38, 46, 47) ist unwahrscheinlich, denn eine Synthese des AMP aus solchen Vorstufen wird hauptsächlich dann angeregt, wenn man Purinnucleoside zusetzt (5, 47). Zudem wäre dann sogar ein Abfall des AMP zu erwarten, denn neu entstandenes AMP wird sehr schnell durch die Adenylatkinasereaktion zu ADP umgebaut (5, 47). Es ist anzunehmen, daß der AMP - Anstieg durch die Dephosphorylierung von ATP und ADP zustande gekommen ist. Dabei kann AMP sogar direkt aus ATP entstehen (7a, 38, 46, 47). Wenn der zuletzt genannten Möglichkeit nennenswerte Bedeutung zukommt, dann wäre der ADP - Abfall damit zu erklären, daß zum Ersatz des verbrauchten ATP ständig ADP aufphosphoryliert worden ist - der ATP - Spiegel bleibt ja konstant -, ohne daß an einer anderen Stelle ADP selbst entsprechend gewonnen wurde. Die Möglichkeit der ADP-gewinnung aus AMP ist gering, denn in der Glykolyse ist eine Aufwertung des AMP nicht möglich (7a). Dazu bedarf es der Adenylatkinasereaktion (7a).

Wie bereits am Anfang betont, läßt sich letztlich mit den vorliegenden Daten nichts beweisen. Es sollten nur mögliche Deutungen angesprochen werden.

Nach dem 3. Tag setzt die Glucoseeutilisation auch in der Prüfserie ein. Der 2,3 - DPG - Abfall verläuft in beiden Serien parallel (30). Das erlaubt die Annahme, daß jetzt auch in der Prüfserie der ADP-Pool aus dem oberen Teil der Glykolyse gespeist werden kann. ADP steigt signifikant an. - In der ACD - Konserve hingegen ist weder ein signifikanter ADP - Abfall zum 3. Tag noch ein signifikanter ADP - Anstieg zum 7. Tag festzustellen. Auch AMP zeigt weder zum 3. noch zum 7. Tag einen entsprechenden Anstieg wie in der Prüfserie.

Die Veränderungen zwischen dem 7. und dem 21. Tag lassen sich einleuchtend erklären. ATP fällt in beiden Konserven ab, ADP und AMP steigen an. Das zeigt, daß die ATP - Synthese mit dem ATP - Verbrauch (Spaltung in ADP und AMP) nicht mehr Schritt hält, sei es, daß die Aufphosphorylierung ineffizient wird, sei es, daß mehr ATP verbraucht wird. Auffallend ist aber, daß zwischen dem 7. und 21. Tag die Verschiebung zu den energieärmeren Phosphatestern ADP und AMP in der Prüfserie weniger ausgeprägt ist als in der Kontrollserie. Man erkennt in der Kontrollserie einen stärkeren Abfall von ATP, stärkeren Anstieg von ADP und AMP. Nach den Messungen von KLÄGER (30) ist der Glucoseverbrauch in der Kontrollserie zwischen dem 7. und 21. Tag nicht signifikant, dagegen ist Glucose in der Prüfserie signifikant abgefallen (30). Betrachtet man die Mittelwerte, läßt sich zeigen, daß die Glucoseutilisation auch in der Prüfserie pro Tag im Durchschnitt kleiner geworden ist. Das 2,3 - DPG weist nach KLÄGER (30) im hier besprochenen Zeitraum keine Unterschiede in der Konzentration auf. Lactat zeigt in der Prüfserie einen deutlicheren Anstieg und liegt wie das Pyruvat am 21. Tag signifikant über dem Wert der Kontrollserie (30). Ist jedoch im Durchschnitt weniger Glucose verbraucht worden, so ist im Durchschnitt auch weniger Lactat und Pyruvat entstanden (30).

Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß nach dem 7. Tag das ATP-liefernde Stoffwechselsystem in beiden Konserven gebremst worden ist, wobei aber eine stärkere Inaktivierung in der Kontrollserie zu verzeichnen ist.

Nun sollen die Vorgänge beschrieben werden, die außer dem oberen Teil der Glykolyse ATP verbrauchen. Dabei soll versucht werden, auch eine Beziehung zum ATP - Abfall zwischen dem 7. und 21. Tag zu finden. In den folgenden Beschreibungen wird damit vieles über die klinische Bedeutung des ATP - Spiegels ausgesprochen, denn ATP ist ja ein äußerst aufschlußreicher und entscheidender Parameter (siehe Einleitung).

1. ATP dient der Aufrechterhaltung der Elektrolytkonzentration im intrazellulären und extrazellulären Raum (1, 7a, 7b, 41, 46, 47). Im normalen Stoffwechsel der Erythrozyten wird ein Drittel des entstehenden ATP für diese Leistung verbraucht (1, 47).
   Der Extrazellulärraum wurde in beiden Serien vergrößert durch die Zugabe des Stabilisators.

   Bei der Diskussion des Hämatokrit wurde deutlich, daß in der Prüfserie zusätzlich eine Flüssigkeitsverschiebung vom intrazellulären in den extrazellulären Raum eingetreten ist. Das erklärt die Unterschiede in der Natriumkonzentration in den Serien (s.o.).

   Kalium jedoch liegt in beiden Serien oberhalb des Normbereichs, obwohl das extrazelluläre Volumen vergrößert ist. Es muß aus den Zellen ausgetreten sein. Dabei ist der Kaliumverlust in der Prüfserie so intensiv, daß dadurch sogar der Verdünnungseffekt durch Wasserverschiebung und Stabilisator übertroffen wird.
   Der Kalium - Ausstrom und der Natrium - Einstrom als passive Vorgänge sind determiniert durch den jeweiligen elektrochemischen Gradienten über der Membran und durch Permeabilitätseigenschaften der Membran für diese Ionen (10, 18, 21).

Entgegengesetzte, und hier nicht ausreichend effektive Kräfte sind vor allem auf die Tätigkeit der Membranpumpen zu beziehen (18, 32, 37, 46, 50a).

Der Konzentrationsunterschied, der ohnehin Kalium in den Extrazellulärraum treibt, ist vermutlich in der Prüfserie noch größer geworden, denn im Extrazellulärraum wird Kalium durch den Wasserausstrom aus den Zellen verdünnt, in den Zellen konzentriert.

In gleicher Richtung kann sich auch die unterschiedliche Menge des Stabilisators auswirken (10,5 ml in der Prüfserie, 7,5 ml in der Kontrollserie).

Von herausragender Bedeutung ist die Aktivitätsminderung der Natrium / Kalium-Pumpe, die in Konserven beobachtet wird (43, 66). Die ATPase für den Elektrolyttransport wird durch extrazelluläres Kalium und durch intrazelluläres Natrium stimuliert. Die Aktivität steigt unter normalen Bedingungen um so stärker, je mehr Kalium ins Extrazellulärvolumen austritt (7a, 32, 38, 41, 52, 53). Für beide Konserven muß eine Stimulierung der Transportprozesse angenommen werden, denn Kalium liegt ja bereits am 1. Tag im übernormalen Bereich. - Als ATP - spaltendes Enzym ist die ATPase an eine genügend große Konzentration von intrazellulärem ATP gebunden. Ein diese Substanz betreffender Substratmangel ist an diesem 1. Tag nicht festzustellen, denn ATP liegt in beiden Serien am 1. Tag im Normbereich. - Die Ursache dieser Aktivitätseinbuße liegt in der Lagerungstemperatur (43, 66), denn bei einem Q - 10 - Wert von 1,5 bis 2,0 für chemische Vorgänge entgegen einem Q - 10 - Wert von 1,0 - 1,3 für physikalische Vorgänge (18) ist der passive Transport aktiv nicht ausgleichbar.

1. bis 21. Tag: Betrachtet man die Entwicklung in der weiteren Konservierungszeit, so zeigt sich, daß das Kalium in der Prüfserie wesentlich stärker ansteigt als in der Kontrollserie, was einem

enormen Efflux in dieser Prüfserie entspricht, denn an den Hämatokritverhältnissen und deren Folgen ändert sich nichts. Auch scheint der Kaliumefflux den Natriumeinstrom besonders in der Prüfserie zu übertreffen. - Der Kaliumanstieg wird aber in beiden Konserven mit der Zeit etwas verlangsamt.

Die kontinuierliche Kaliumanreicherung hat mehrere Ursachen. Die Temperatur 4°C verhindert während der ganzen Zeit einen entsprechenden Aktivitätsanstieg der Membranpumpen, obwohl die Stimulierung durch Kalium im Extrazellulärraum und Natrium im Intrazellulärraum ständig größer wird.

Nach dem 7. Tag ist in beiden Konserven zusätzlich ein durch ATP-Verlust bedingter Substratmangel in Betracht zu ziehen.
Dagegen bleiben die treibenden Kräfte der physikalischen Vorgänge, die elektrochemischen Gradienten erhalten, zusätzlich gestärkt in der Prüfserie.

Die bekannte Strukturschädigung der Zellmembran und der Untergang von Zellen (3, 25) tragen ebenfalls zur Kaliumanreicherung im Serum bei. - Auf die spontane Hämolyse wird später eingegangen. Hingegen wird die beschriebene Verzögerung der Austauschprozesse durch eine Membraneigenschaft bewirkt. Die Permeabilität für Kalium und Natrium, die unter normalen Umständen schon äußerst gering ist (1, 10, 41, 52), wird durch fallendes pH noch geringer (10, 41). Im Laufe der Konservierung fällt der pH - Wert in beiden Konserven ab dem 3. Bestimmungstag deutlich ab. Zudem ist in der Prüfserie von Anfang an ein signifikant niedrigerer pH - Wert festgestellt worden (30). - Diese Permeabilitätsänderung ist nach PASSOW auf eine elektrostatische Abstoßung durch die in Membranporen fixierten, positiv geladenen Festionen zurückzuführen (41).

Kommt man zu der Frage zurück, welchen Stellenwert der ATP - Verbrauch dieser Natrium/Kalium-Pumpe an der ATP - Abnahme

einnimmt, so ist zu sagen, daß die ATP - Hydrolyse durch die Membran-ATPase wahrscheinlich nicht der entscheidende Faktor ist, denn es besteht auch hier eine ausgeprägte Aktivitätsminderung durch die Temperatur. Auch arbeitet diese ATPase weit ab von ihrem pH - Optimum (4, 25).

Bedeutend ist aber der umgekehrte Zusammenhang. Wird der ATPase nicht genügend ATP angeboten, so gerät sie zusätzlich zur Temperatur- und pH - Hemmung in eine Substrathemmung.

2. ATP ist Substrat zweier Reaktionen in der oberen Glykolyse (s.o.). Die Glykolyse ist aber weniger als ATP - verbrauchendes System zu sehen, sondern als ATP - regenerierendes.
In der Prüfserie muß zwischen dem 7. und 21. Tag ATP in der Hexokinase- und Phosphofructokinase -Reaktion verbraucht worden sein, denn die Glucosekonzentration ist signifikant abgefallen. Im selben Zeitraum stellt man aber trotzdem einen geringeren ATP-Abfall fest, weil nach der Überwindung des ersten und schwierigsten Schrittes, der Hexokinasereaktion, nachfolgend ATP gebildet wird.

3. ATP wird verbraucht bei den Prozessen, die die Zellintegrität und die Zellform aufrechterhalten (1, 38, 44a, 46, 47, 68, 33). Die durch den ATP - Abfall bedingten Funktionsstörungen bekommen hauptsächlich nach der Transfusion Bedeutung (siehe Einleitung). Jedoch findet man in der Konserve eine Spontanhämolyse, wobei diese in der Prüfserie erhebliche Ausmaße annimmt.

Hämolyse ist nach RAPOPORT eine Schädigung der Zellmembran, die den Austritt des Hämoglobins aus den Erythrozyten zur Folge hat. Drei Mechanismen, die zur Hämoglobinfreisetzung führen, werden genannt: durch hyposmolare Lösungen kommt es zur osmotischen Hämolyse, durch Schädigung der Membran mit Netzungsmitteln etc. zur Membranhämolyse, durch ATP - und Glutathion-

Abfall zur stoffwechselbedingten Hämolyse, denn bei Konzentrationsabnahme von ATP und Glutathion führen bereits sonst unterschwellige Einwirkungen und Membranschädigungen zur Hämolyse (47). BESSIS (3) definiert die Hämolyse als Diffusion des Hämoglobins aus dem Erythrozyten und führt diese zurück auf osmotisch, physikalisch und chemisch bedingte Einwirkungen auf den intakten Erythrozyten.

Der Anstieg des Hämoglobins im Serum (44a, 68) soll bedingt sein durch die Schwellung der Zellen (bis unter das kritische Volumen), durch die gleichzeitigen Alterungsvorgänge, Membranveränderungen, Stoffwechselaktivitätsverluste und Störungen der Kationenverteilung (34). Nach BESSIS (3) findet nach vollzogener Stechapfelbildung (siehe Einleitung) eine Fragmentierung statt. Die Erythrozyten verlieren Membranstücke, die Hämoglobin enthalten können (3).

Die entscheidende Frage ist, durch welche Mechanismen die wesentlich höhere Hämolyse in der Prüfserie zu erklären ist.
Eine osmotische Hämolyse ist unwahrscheinlich, denn erstens ist der extrazelluläre Raum auch nach der Durchmischung mit Blut noch hyperosmolar, und zweitens sind als Folge davon die Zellen kleiner geworden.
Eine physikalisch bedingte Hämolyse erklärt den Unterschied ebenfalls nicht. Die Konservierungsbedingungen sind in dieser Hinsicht in beiden Konserven gleich.
Kommt eine Membranhämolyse in Betracht? Sowohl Magnesium als auch Aspartat sind sicher nicht in der Lage, die Membran zu schädigen. Hämolyse durch Stoffwechselabfall? ATP liegt in der Prüfserie niedriger, am dritten Tag sogar signifikant. Aber der ATP - Abfall als alleinige Ursache des Unterschieds erscheint deshalb etwas zweifelhaft, weil auch in der Prüfserie der ATP - Gehalt bis zum 7. Tag im mittleren Normbereich bleibt. - Nach dem 7. Tag jedoch ist der gesunkene ATP - Spiegel mit allen Konsequenzen zweifellos entscheidend.

Eine befriedigende Erklärung kann nicht gegeben werden. Die Zellverkleinerung an sich ist aber ein kritischer Faktor, wenn man bedenkt, wie Hämoglobin in der Zelle vorliegt. Der Hämoglobingehalt beträgt 34 % der Erythrozytensubstanz, 95 % der Trockensubstanz (8, 28, 42). Hämoglobin ist in Wasser gelöst, erreicht aber fast seine Sättigungskonzentration (3, 28, 32, 42, 52). Die Lösung ist so dicht, daß nur noch Rotationsbewegungen der Moleküle möglich sind (3, 28, 52). Das führt dazu, daß Hämoglobin bei geringen Störungen schon auskristallisiert (3, 28). Nach BESSIS sind drei wesentliche Ursachen für diese Kristallbildung Kälte, Natriumcitrat, und Hypertonicität des Mediums (3).

Bei einer Wasserverschiebung wie in der Prüfserie müssen Veränderungen im Hämoglobinstatus angenommen werden. Man ist versucht, zu sagen, die Zelle versuche, Hämoglobin abzustoßen, eventuell durch eine Fragmentierung, wie sie oben beschrieben worden ist. Aber das ist rein spekulativ.

Die Hämolyse ist keineswegs nur die Folge deletärer Stoffwechselveränderungen, sondern greift ihrerseits in den Stoffwechsel ein: es werden bei der Hämolyse ATPasen und DPNasen aktiviert (36). ATP - spaltende Enzyme, magnesiumabhängig, die in der intakten Zelle maskiert vorliegen, werden bei Hämolyse aktiv (36, 47). Jedoch auch für diese ATPasen besteht die Hemmung der Aktivität durch pH und Temperatur.
Abschließend noch einmal die Frage des ATP - Abfalls. Am meisten einleuchtend sind die Übereinstimmungen zwischen der schrittweisen Inaktivierung der Glykolyse und dem Kleinerwerden des ATP - Pools. Letztlich ist eine ausreichende Glykolyse die wesentliche ATP-stabilisierende Komponente, denn hier besteht die Möglichkeit, regulativ dem ATP - Verbrauch entgegenzuwirken. Die Aktivitätseinschränkung durch Kühlung ist notwendig, um die Alterung der Zellen zu bremsen. Dafür nimmt man den Konservierungsschaden in Kauf, der weniger die Enzyme in ihrer Struktur als die

Enzyme in ihrer Einschränkung durch Substratmangel und veränderte Thermodynamik betrifft.

Dieser Abschnitt sollte zeigen, wie man die Veränderungen im Stoffwechsel betrachten kann. Auffallende Ergebnisse wurden in Verbindung miteinander gebracht, und mit Hilfe bekannter Gesetzmäßigkeiten zu erklären versucht. Dabei wurde bewußt übergangen, daß die Zellen im Blut nur zum größten Teil, aber nicht ausschließlich aus Erythrozyten bestehen. Doch kann man die Deutungen rechtfertigen, wenn man folgendes bedenkt: Die Erythrozyten überwiegen an Zahl die andern Zellen bei weitem. Das allein bedeutet noch nichts, denn nicht nur die Zahl, sondern auch die Aktivität der Stoffwechselträger geht in die Messung mit ein. Doch gerade die stoffwechselaktiven Thrombozyten und Leukozyten werden durch das Milieu in der Konserve, die Temperatur 4°C und den Sauerstoffmangel, in ihrer Aktivität sehr stark eingeschränkt, was ja auch deren Haltbarkeit zum Teil auf wenige Tage beschränkt (siehe Einleitung). - Zum andern wurden zur Erklärung Stoffwechselparameter verwendet, die eindeutig den Erythrozyten zuzuordnen sind : 2,3 - DPG, Hämolyse.
Schließlich wurde betont, daß diese Untersuchungen mehr als globale Experimente für einen Einsatz von Magnesium - L - Aspartat zu sehen sind und nur soweit exakte Veränderungen des Stoffwechselverhaltens zu beschreiben haben, soweit es eben mit diesen Mitteln möglich ist.

Im 2. Abschnitt folgen Überlegungen, wie der Einfluß das Magnesium - L - Aspartats auf die ACD-Konserve zu beschreiben ist.

Abschnitt 2

Magnesium geht mit den Phosphaten eine Komplexbindung ein (9, 17, 21, 35). Diese Bindung kommt aus mehreren Gründen zustande: erstens sind Phosphate bei pH = 7,0 vollständig dissoziiert und daher als Anio-

nen wirksam (32). Zweitens besitzen sie aufgrund der Ladungsverteilung gerade für zweiwertige Kationen eine hohe Affinität (32). Drittens findet man Magnesium normalerweise in hoher Konzentration in der Zelle (32). Der Magnesium - ATP - Komplex liegt in der Zelle nahezu im 1:1 - Verhältnis vor (32). Entscheidend ist aber, daß nicht das ATP, sondern der Magnesium - ATP - Komplex das Substrat ist, das mit Enzymen, von denen es umgesetzt wird, eine passagere Bindung eingeht (45). So ist der Magnesium - ATP - Komplex zum Beispiel spezifisches Substrat der Hexokinase (7a, 7b, 33, 46), wogegen von ATP sogar eine Hemmung dieses Enzyms ausgeht (33). Durch die elektrischen Eigenschaften des Magnesiums ist der Magnesium - ATP - Komplex so konfiguriert, daß die Affinität zum aktiven Zentrum herbeigeführt wird (20, 47). Bei anderen Enzymen verändert das Magnesium fernab vom aktiven Zentrum die Konfiguration des Enzyms so, daß das Substrat gebunden werden kann (20).

Magnesium wirkt sicherlich am meisten dann aktivierend, wenn ein Magnesiummangel vorliegt, und dieser Magnesiummangel die Hauptursache einer gehemmten Reaktion ist.
J. SYLLM-RAPOPORT berichtet, daß die Glykolyserate von Erythrozyten bei magnesiummangelernährten Ratten nach einiger Zeit um mehr als 50 % herabgesetzt ist. Die verminderte Glykolyse wird darauf zurückgeführt, daß die Hexokinase hierbei mit Magnesium nicht gesättigt ist. Die Aktivität zeigt unter diesen Bedingungen deutliche Abhängigkeit von der Magnesiumkonzentration (63).
JACOBASCH berichtet, daß Erythrozyten des Hundes im Magnesiummangel verminderte Aktivität der Hexokinase und der Phosphofructokinase zeigen. Dabei ist die verminderte Glykolyse vor allem auf die Hemmung der Hexokinase zurückzuführen. Nach 90 Tagen magnesiumarmer Diät wurde Magnesiumsulfat der Nahrung zugesetzt. Der Glucoseverbrauch steigerte sich parallel zur Erhöhung der Magnesiumkonzentration (26).

Magnesium kann auch dann einen positiven Effekt zeigen, wenn es zwar nicht im Mangel, aber auch noch nicht im Sättigungsbereich vorliegt, und damit in seiner gegenwärtigen Konzentration sogar die Aktivität der Enzyme reguliert, soweit ihm diese Fähigkeit zukommt.

Eine Aktivierung durch Magnesium ist hierbei zusätzlich abhängig von andern Faktoren : ausreichende Substratsättigung (9, 47), Entfernung der entstehenden Produkte aus dem Gleichgewicht (9, 47), reaktionsfähige Konfiguration des aktiven Zentrums in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration (47), günstiger Temperaturbereich (47), keine Beeinträchtigung durch kompetitive bzw. nicht kompetitive Hemmung (47), keine störende Interferenz mit andern Stoffwechselwegen. Zusätzlich werden zerstörte Enzyme zumindest im Erythrozyten nicht mehr ersetzt, da die für die Proteinsynthese erforderliche Zellorganisation nicht mehr existiert (1, 4, 8, 48, 68).

Zwei Enzyme sollen herausgegriffen werden, um die möglich Wirkung des Magnesium - L- Aspartats zu diskutieren: Die Hexokinase als Schlüsselenzym der Glykolyse und die Membran-ATPase für den aktiven Kationentransport.

Die Hexokinase:
Glucose als Substrat liegt im Übersättigungsbereich vor (7a, 7b, 19, 46), der transmembranöse Glucosegradient ist nicht entscheidend für die Hexokinaseaktivität (19). Regulierend in der Hexokinasereaktion sind die Konzentrationen an ATP und Magnesium (s.o.). Die ATP-Konzentration kann schon unter physiologischen Verhältnissen so niedrig sein, daß sie die Hexokinasereaktion limitiert (7a, 7b, 46). ATP-Vermehrung kann die Hexokinasereaktion steigern (7a), bei ATP-Mangel läuft die Reaktion trotz genügenden Glucoseangebots nicht ab (7a, 7b, 47). Auch Magnesium kann limitierend sein (7b). Wie Magnesiummangel die Hexokinaseaktivität und damit den Start der Glykolyse bremst, kann ein Überschuß an Magnesium die Glykolyse antreiben (7b), unter Umständen aber auch hemmend wirken (46).

Der starke Aktivitätsverlust ist bei der Konservierung aber auf die Erniedrigung des pH-Wertes und die Kühltemperatur zurückzuführen. Die auf pH-Änderungen empfindliche Hexokinase mit pH-Optimum = 8,0 (39, 57) wird durch eine pH-Erniedrigung stark in ihrer Aktivität beeinträchtigt (16, 46, 57, 59).
Die Temperatur 4°C greift in die enzymatische Tätigkeit derart ein, daß lediglich eine Vita minima übrig bleibt (59, 65). So mißt PREISSLER am ersten Tag nach der Blutabnahme in ACD-Konserven eine um 40 % abgefallene Aktivität (43), zu einem Zeitpunkt, wo in den hier vorliegenden Untersuchungen das ATP noch nicht abgefallen ist. Gerade der Abfall gleich zu Beginn scheint das Gewicht auf die Hemmung durch Temperatur und pH zu legen, während der ATP-Abfall zu diesem Zeitpunkt nicht entscheidend sein dürfte.

Es besteht kein Zweifel, daß Magnesium unter Umständen die Glykolyse beeinträchtigt (26, 33, 63), jedoch ist Magnesium als Mittler zwischen Enzym und Coenzym bei der verminderten Wechselzahl des Enzyms kaum im Mangelbereich, zumal von keinem Spender ein Magnesiummangel bekannt ist.
Die Magnesiumpermeabilität ist äußerst gering (41), die Serumwerte liegen in der ACD-Konserve im Normbereich.

Die Meßergebnisse von KLÄGER (30) ergeben, daß Glucose vom ersten bis zum dritten Tag in der Prüfserie nicht abgefallen ist. Das deutet auf eine starke Hemmung der Hexokinase hin, eine Hemmung, die stärker ausgeprägt ist als in der Kontrollserie, denn in dieser fällt die Glucose in diesem Zeitraum signifikant ab. Diese Hemmung ist durch den signifikant niedrigereren pH-Wert in der Prüfserie erklärbar. Der Start dieser Reaktion auch in der Prüfserie nach dem dritten Tag könnte auf einer Herabsetzung hemmender Glykolyseprodukte wie 2,3 - DPG (46), Glucose- 6 - phosphat (7a, 7b, 46) durch weitere Metabolisierung beruhen. Zwischen dem 7. und 21. Tag jedoch ist die Glykolyserate in der Prüfserie höher (KLÄGER). Vielleicht besteht hier ein Zusammen-

hang mit dem signifikanten Abfall des Magnesiums im Serum. Skepsis ist aber angebracht, denn die Kontrollserie, beziehungsweise die sich bezüglich des Magnesiums normal verhaltende Serie zeichnet sich nicht durch großen Magnesiumverlust der Zellen aus, so daß es nicht zwingend erscheint, daß die Zelle in einen Magnesiummangel gerutscht ist und damit durch Magnesiumaufnahme reaktivierbar ist.

Die Membran - ATPase:
Die ATPase - Reaktion ist optimal, wenn zelluläres Magnesium und ATP in äquimolarem Verhältnis vorliegen (20). Die nachfolgende Konformationsänderung des phosphorylierten Enzyms wird von Magnesium gesteuert (52). Auch die Phosphatase, die in Abhängigkeit von extrazellulärem Kalium die Phosphatgruppe vom Transportenzym wieder abspaltet (20, 32, 52), benötigt Magnesium. Hier lagert sich freies Magnesium vermutlich an eine Stelle des Enzyms an, die nicht dem aktiven Zentrum angehört, die aber für die Konformation des aktiven Zentrums bestimmend ist (20). Bei Magnesiummangel ist die Abspaltung der Phosphatgruppe vom Enzym gehemmt (20).

Der transmembrane Kationentransport ist streng gekoppelt an die Hydrolyse des ATP (32, 41, 53), wobei das ATP - Angebot (32), die Temperatur (43), die verschiedenen Ionenkonzentrationen im extra- und intrazellulären Raum (7a, 7b, 21, 32, 38, 43), und die Magnesiumkonzentration in der Zelle entscheidend sind. Erdalkalimetalle in der Außenlösung sind nicht von Bedeutung (41).

Die maximale Kapazität unter physiologischen Versuchsbedingungen bleibt mindestens bis zum 95. Tag der Lagerung bestehen (21), was bedeutet, daß der Kaliumverlust der Zellen nicht auf der Zerstörung des Enzyms beruht (43). Die aktuelle ATP - Konzentration ist zu einem Teil für den Kaliumverlust während der Lagerung verantwortlich (21, 43). Doch auch die Verzögerung eines progredient sich entwickelnden ATP - Mangels durch Purinzusatz kann den Kaliumausstrom nicht ganz verhindern (43). Das wird damit erklärt, daß die ATPase infolge

der Hemmung durch die Kühltemperatur trotz genügenden Substratangebots nicht so effizient arbeitet, daß der Ionenausgleich zwischen Zelle und Plasma ausbleibt (43). Es erhebt sich die Frage, ob Magnesium-L - Aspartat in diese Vorgänge positiv eingreifen kann.

Da bei der Konservierung nicht die Abnahme von potentiellen Enzymkapazitäten die Hauptrolle spielt, sondern der progredient sich einstellende Substrat- und Coenzymmangel (45), können nur solche Maßnahmen effizient sein, die diese Verarmung an Substrat und Coenzym verhindern. Als besonders wirksam hat sich der Zusatz von Purinen erwiesen, weil hierdurch unter Umgehung der hochempfindlichen Hexokinase zusätzliches ATP erzeugt wird (1, 4, 5, 13, 38, 47). Die erwartete Magnesium-L-Aspartatwirkung aber muß ihren Weg über die Hexokinase nehmen, denn das Prinzip der ATP-Bereitstellung durch Stimulierung mit Elektrolyten besteht in einer Aktivierung auch üblicherweise dominierend ablaufender Prozesse.
Wie die durchgeführten Untersuchungen zeigen (KLÄGER) , ist eine Aktivierung der Hexokinase zumindest am Anfang nicht festzustellen. Gerade aber die initiale Aktivierung in den ersten Tagen ist entscheidend, denn wenn ATP einmal abgefallen ist, folgen andere Störungen nach, die auch durch später verzögerten ATP-Abfall (Prüfserie) nicht mehr aufzuhalten sind (38).
Die Prüfserie hat aber nicht nur gezeigt, daß ein positiver Einfluß nicht eintritt bei Verwendung von 20 %-igem Magnesium-L-Aspartatzusatz, sondern man muß im Gegenteil eine Verschlechterung der Stoffwechselsituation feststellen. Mehrere Ursachen kommen dafür in Betracht. Ein wichtiger Punkt ist der signifikant niedrigerere pH-Wert. Die Bedeutung für die Glykolyse wurde genannt (s.o.). So schafft der Zusatz, der aktivieren soll, zunächst einmal durch seine Eigenschaften eine Hemmung der Stoffwechselvorgänge.
Eine andere Störmöglichkeit liegt darin, daß das quantitative Verhältnis zwischen Magnesium und ATP durch eine Magnesiumzufuhr gestört werden kann, besonders dann, wenn die ATP-Synthese sich ständig

ändert. Für die optimale Enzymaktivität besteht ein konstantes Verhältnis zwischen den Konzentrationen von Magnesium und ATP (7a, 7b), bei der Hexokinase z.B. ein Verhältnis von 1 : 1 (46). Magnesium oder ATP im Überschuß können die Substratumsetzung sogar bremsen (46).

Eine Aktivierung der Membran-ATPase ist ebenfalls nicht festzustellen. Kalium steigt in der Prüfserie erheblich schneller an als in der Kontrollserie. Wird die ATP-regenerierende Glykolyse gebremst, besteht die Möglichkeit der Substrathemmung dieses Enzyms. Der Verlauf der ATP- und ADP-Konzentrationen in der Prüfserie läßt in der ersten Lagerungsperiode keinen Vorgang erkennen, der intensiv ATP spaltet (s.o.). So muß angenommen werden, daß die ATPasen neben der eventuell schon vorhandenen Substrathemmung genau so wie die Hexokinase durch Magnesium-L-Aspartat-spezifische Störeinflüsse (pH, Störung der stöchiometrischen Beziehung der Reaktionsteilnehmer untereinander) in ihrer Umsatzrate gedrosselt werden.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen offensichtlich ein abweichendes Ergebnis von bisherigen Erfahrungen mit Magnesium-L-Aspartat (siehe Einleitung).

Der Hämatokritunterschied macht deutlich, daß die Magnesium - Aspartat - Aufnahme in die Zelle offensichtlich problematisch ist, denn ein großer Teil des Magnesium - L - Aspartats scheint die Zellmembran nicht zu durchqueren und damit durch seine osmotische Aktivität dem intrazellulären Raum Wasser zu entziehen. Hinsichtlich der Aminosäureaufnahme generell nehmen die Erythrozyten eine besondere Rolle ein.

Es gibt Meinungen, nach denen der Aminosäuretransport in den Erythrozyten keine große Rolle mehr spielt. So wird die Ansicht geäußert, daß zwar die Zellmembran der Retikulozyten viele Carrier für Aminosäuren besitzt, nicht mehr aber der reife Erythrozyt (48). Es soll eine stark reduzierte Aufnahmekapazität erhalten bleiben (48). Die große

Zahl intrazellulärer Aminosäuren des Erythrozyten stammt nach BEGEMANN (1) aus zelleigenen Proteinen, denn während der Reifung der Erythrozyten werden vermehrt proteolytische Enzyme gebildet, die nicht lebensnotwendige Stromaeiweiße und Enzyme abbauen (1). Die daraus entstehenden Aminosäuren gehen in den reiferen Retikulozyten in den Energiestoffwechsel und in die Globinsynthese ein (1). Jedoch werden von transportaktiven Retikulozyten bevorzugt Glutamin, Aspartat, Prolin, Serin und Glycin aufgenommen (48). Innerhalb der Retikulozyten besteht ein reger Aminosäurestoffwechsel (48), wobei die Aspartat-Verstoffwechselung eine große Rolle spielt, zum Beispiel im Citrat-Zyklus (48).

Die Aspartataufnahme im einzelnen:
Asparaginsäure ist eine trivalente Aminosäure (51), die wegen ihrer vielen polaren Gruppen stark hydrophil ist (51). Folglich ist die passive Permeabilität sehr gering (50a). Die Aspartataufnahme folgt den Gesetzen der Aminosäureaufnahme.
Aminosäuren werden über spezielle Carrier in den intrazellulären Raum transportiert (32, 50a). Der Transport ist energieverbrauchend, wobei die treibende Kraft in den Intrazellulärraum zunächst der nach innen gerichtete Natriumgradient ist (32, 50a). Nach LEHNINGER werden Natrium und Glucose bzw. Aminosäuren zusammen in die Zelle aufgenommen; der Carrier erleichtert zwangsweise einen gemeinsamen Transport für Glucose (Aminosäure) und Natrium. Diese Aufnahme geschieht passiv, ist als passiver Vorgang auch in Abwesenheit von Natrium im extrazellulären Raum möglich, wenn der entsprechende Gradient der Aminosäure besteht (32). Aktiv ist jedoch das fortlaufende Wiederauspumpen des Natrium aus der Zelle und Wiederherstellen des Gradienten (32). Dabei wird ATP hydrolysiert (32, 50a). Nach LEHNINGER sind dafür zwei Pumpen zuständig: die an den gleichzeitigen Kaliumtransport gebundene, und eine andere, die an den Kaliumtransport nicht gebunden ist.
Durch Quabain läßt sich die aktive Aufnahme einer Aminosäure gegen

ihren Konzentrationsgradienten blockieren (32); auch bei Blockade der ATP-Synthese findet kein Aminosäuretransport statt (32, 50a). Nach diesem wahrscheinlich gemachten Prinzip arbeiten mehrere Transportsysteme, die für jeweils eine Gattung von Aminosäuren spezifisch sind. Jedes dieser Transportsysteme besitzt ein eigenes pH-Optimum und eine eigene MICHAELIS-Konstante (32).

Die Aspartataufnahme speziell wurde von RING untersucht (51). Er führte seine Untersuchungen an einem Bakterium durch, Streptomyces hydrogenans. Er betont aber, daß in Bezug auf grundlegende Vorgänge im Aminosäuretransport bei Eu- und Prokaryonten weitgehende Übereinstimmung herrsche (51). Er fand, daß die Aspartataufnahme weit spezifischer als der Transport neutraler Aminosäuren durch bestimmte Ionen aktiviert wird (51). Er nennt besonders Kalium- und Rubidiumionen (51). Da Aspartat vorwiegend als Anion vorliegt, muß zur Aufrechterhaltung der Elektroneutralität ein Kation in die Zelle nachfolgen (51). Die Aspartataufnahme durch Streptomyces hydrogenans verläuft zu Beginn rasch, bis ein steady state erreicht ist (51). Für die Aufnahme bestehen zwei Transportsysteme: in neutralem Milieu wird vorzugsweise das Aspartat-Anion aufgenommen, in saurer Lösung hauptsächlich die Zwitterform (51). Seine kinetischen Studien zeigen, daß eine Erhöhung des extrazellulären Kaliumgehalts eine massive Steigerung der Aspartataufnahme bewirkt. Natrium dagegen wirkt in seinen Experimenten nur in sehr niedriger Außenkonzentration transportbeschleunigend. Bei Erhöhung der Natriumkonzentration im Extrazellulärraum stellt er sogar eine Hemmung der Aspartataufnahme fest. Bei gleichzeitiger Natrium- und Kaliumverwendung in der Außenlösung ist die aktivierende Kaliumwirkung vermindert (51).

Hier besteht hinsichtlich des Natriums ein Widerspruch zwischen den auch von ihm genannten Vorstellungen zum Aminosäuretransport und den Resultaten an Streptomyces hydrogenans. Die Art der Aktivierung ist nach seinen Interpretationen der Transport von Aspartat und Kalium durch das gleiche Carriermolekül, denn erstens ist der primäre Ka-

liumeffekt über einen großen pH-Bereich deutlich, also nicht elektrogen, zweitens werden durch Kalium beide Transportsysteme (s.o.) in ihrer Affinität zu Aspartat um den gleichen Faktor erhöht (51).

Im Zusammenhang mit der Blutkonservierung ist aber auch der umgekehrte Mechanismus von Bedeutung, die Beeinflussung der Kalium- und Magnesiumaufnahme durch L-Aspartat.

RING fand, daß - wiederum bei Streptomyces hydrogenans - Aspartat die Kaliumaufnahme in kaliumverarmte Zellen deutlich beschleunigt, wobei der Effekt zu Beginn der Inkubation größer ist als im steady state (51). Auch für die Magnesiumaufnahme wird eine ähnliche Beschleunigung durch L-Aspartat festgestellt (51). An einer anderen Stelle äußert RING die Meinung, daß Magnesium eventuell eine Brücke zwischen Carrier und Aminosäure bildet (50b). Andere Autoren sind der Ansicht, daß Aminosäuren nur in chelatisiertem Zustand die Zellmembran durchdringen können. Die Asparaginsäure sei wegen ihrer hohen Chelatbildungstendenz besonders hervorzuheben (37).

Wie zu sehen ist, besteht keine gesicherte Erkenntnis, auf welche Weise Magnesium - L- Aspartat bzw. Kalium - L - Aspartat in die Zelle aufgenommen wird. Daß aber der Transport gegen einen Gradienten auf jeden Fall aktiv ist, ist nicht zu bezweifeln.

Trotz vieler Unklarheiten über den Mechanismus der gegenseitig beeinflußten Aufnahme von L-Aspartat und Kalium bzw. Magnesium zeigen Untersuchungen an Geweben, daß - in der Regel Kalium betreffend - eine Kaliumanreicherung in der Zelle bei Verwendung von Kalium - L - Aspartat festzustellen ist, z.B. in Erythrozyten und in der Muskelzelle (58), oder auch im Meerschweinchendarm (69).

Zum anderen wird auch der in bestimmten Situationen eintretende Elekrolytverlust der Zelle gebremst, was darauf zurückgeführt wird, daß der Aspartat - Elektrolyt - Komplex mit hoher Komplexbindungskonstante Kationen in der Zelle festhält und somit den Efflux bremst

(37). Diese Leistungen seien durch Lactat und Pyruvat nicht zu erbringen (37).

Die Magnesium - L - Aspartat - Aufnahme in konservierte Blutzellen in den vorliegenden Versuchen ist mit beträchtlichen Schwierigkeiten verbunden.
Ist die Aminosäure - Anreicherung ein aktiver Prozeß, dann ist sie nur möglich, solange die Zelle genügend Energie und aktuelle Enzymkapazitäten besitzt. Mit einer Aufnahme in der Prüfserie ist nur vor der Kühlperiode zu rechnen, denn die Auswirkungen der Temperaturherabsetzung auf aktive Transportprozesse zeigt sich ja beim Verlauf der Kaliumkonzentration im Serum.
Es ist auf Grund zitierter Befunde anzunehmen, daß Magnesium - L - Aspartat gleich nach der Durchmischung mit dem Blut in die Zelle aufgenommen wird. Diese Anreicherung ist aber nach 24 Stunden längst abgelaufen, so daß ein konstant bleibender Magnesiumspiegel am 1., 3., 7. Tag nicht bedeutet, daß die Substanz gar nicht aufgenommen wird. Magnesium muß aber aufgenommen worden sein, denn der gemessene Serumspiegel liegt unter dem, der berechnet werden kann für den Fall, daß kein Magnesium in die Zelle aufgenommen worden ist. Eine einfache Diffusion von Magnesium ist unwahrscheinlich, denn der Membranwiderstand für Magnesium ist so groß, daß es auch dann nur langsam in die Zelle eindringt, wenn seine Konzentration außen größer ist als innen (41).

Der im Extrazellulärraum zurückgebliebene Anteil des zugefügten Zusatzes wirkt sich über die ganze Zeit der Konservierung osmotisch ungünstig aus.

Trotz einer gewissen Aufnahme von Magnesium - L - Aspartat zeigt die Prüfserie ein schlechteres Stoffwechselverhalten. Neben genannten Gründen sind weitere anzuführen.

Einige Autoren steckten den Raum ab, in dem Magnesium - L - Aspartat bzw. Kalium - Magnesium - L - Aspartat für den Erythrozyten positive Wirkungen zeigt.
I. MÜNCHEN äußert die Meinung, der Erythrozyt sei geeignet als Indikator für den Elektrolytstoffwechsel aufgrund einer hochaktiven, spezifisch definierten Kalium-Natrium-ATPase (37). STRUCK und Mitarbeiter schließen sich dieser Meinung an (61). Dagegen betonen sowohl I. MÜNCHEN als auch STRUCK, SEBENING und REYMANN, daß der Erythrozyt als Indikator für Einwirkungen auf den Citratzyklus (37) bzw. für die Aufnahme der Asparaginsäure (58) nicht geeignet ist. Gemäß dieser Erkenntnis wurde für die Blutkonservierung reines Magnesium - L - Aspartat verwendet, denn während D - Aspartat hauptsächlich den Stoffwechsel ankurbelt (58), kommt dem L - Aspartat die Funktion des Elektrolytcarriers zu (58).
I. MÜNCHEN betont die enzymaktivierende Wirkung der zugeführten Kationen und die zentrale Funktion der Asparaginsäure im Stoffwechsel (37). Dieses Wirkprinzip kann sich unter Konservierungsbedingungen aber gar nicht zeigen, denn die Verstoffwechselung von Asparaginsäure dürfte sehr beschränkt sein, und die zugeführten Kationen können temperatur- und pH- gehemmte Enzyme nur geringgradig aktivieren, wie die Glykolysebestimmungen von KLÄGER zeigen (30). Für die gelagerten Zellen aber wäre gerade ein ATP - Gewinn sehr wünschenswert.

Theoretisch bleibt also die Möglichkeit, daß in die Zelle gelangtes Aspartat Elektrolyte festhält. Die Kaliumkonzentration aber ist im Serum stark angestiegen, und Magnesium hat sich auch in der Kontrollserie nicht wesentlich geändert.

Die Firma FRANZ KÖHLER CHEMIE KG gibt an, daß die Beständigkeit des Magnesium - Aspartat - Komplexes am geringsten unter den Komplexen mit zweiwertigen Kationen ist . - RING hat festgestellt, daß bei neutralem pH die Komplexbildung von Magnesium kaum zu messen ist, weil es wenig Neigung hat, mit Aminosäuren Chelate zu bilden (50a).

Es erhebt sich die Frage, ob austretendes Kalium das Magnesium zum Teil aus der Aspartatbindung verdrängt. Wenn es richtig ist, daß Kalium und Aspartat gleichzeitig durch die Zellen aufgenommen werden, dann besteht unter physiologischen Bedingungen durchaus die Möglichkeit, daß Aspartat die Kaliumaufnahme forciert. Jedoch wird in den Versuchen deutlich, daß eine Kaliumeinschleusung nicht möglich ist, wenn Konservierungsbedingungen vorliegen. - Dem entspricht auch die Tatsache, daß die Magnesiumkonzentrationen keinen Anhalt für eine Magnesiumaufnahme während der Lagerungsperiode bieten, denn bei gleichem Aufnahmemodus für mit Aminosäuren gekoppeltes Kalium und Magnesium (s. RING) müßte sich auch der Magnesiumspiegel im Laufe der Zeit entsprechend ändern. So scheidet die Wiedereinschleusung aus Gründen der mangelnden Energieverwertung trotz Stimulierung bei $4^{o}C$ aus, was nicht überrascht, denn die hohe Kaliumkonzentration kann nicht einmal die sonst sehr aktive Membran-Natrium-Kalium-ATPase stimulieren bei der herrschenden Kühltemperatur. So ist das Aspartat in der kritischen Zeit des Kaliumverlustes nicht in der Lage, Kalium wieder einzuschleusen. -

Andererseits ist auch in der Zelle eine Kalium-Chelatbildung nicht wahrscheinlich, denn Kalium wurde ja in keiner Weise in der Zelle zurückgehalten.

So läßt sich resumierend feststellen, daß die Substanz Magnesium - L - Aspartat kein adäquates Gegenmittel für den Elektrolyt- und Substratverlust ist.
In der angelegten Prüfserie war durch Magnesiumzufuhr keine vermehrte Ausbeute an ATP zu erzielen, der Kaliumverlust der Zellen konnte nicht verhindert werden. Zudem wurde eine osmotische Belastung mit nachfolgenden Störungen herbeigeführt.

Abschnitt 3

Im letzten Abschnitt sollen die Ergebnisse im Hinblick auf die klinische Verwertbarkeit des Magnesium - L - Aspartats bei der Blutkonservierung zusammenfassend besprochen werden, soweit es den Energiestoffwechsel, die Elektrolyte Natrium und Kalium und die Hämolyse betrifft.

Man kann mit dem Zusatz von 3 ml 20 %iger Magnesium - L - Aspartatlösung zum gebräuchlichen ACD - Stabilisator keine Verbesserung des Energiestoffwechsels gegenüber der reinen ACD -Konservierung erzielen. Das konservierte Blut wird im Gegenteil nachteilig beeinflußt. Dies wird begründet mit der Feststellung, daß Magnesium - L - Aspartat offensichtlich kein adäquates Gegenmittel für den Konservierungsschaden ist. Im Unterschied zu den Verhältnissen in vivo ist eine positive Einflußnahme durch hier verwendetes Magnesium - L - Aspartat in einem gekühlten in vitro -System nicht zu verzeichnen, weil die Ursachen der Stoffwechselverschlechterungen in den beiden Systemen sich grundsätzlich voneinander unterscheiden, obwohl die daraus resultierenden manifesten Störungen zu einem Teil die gleichen sind (Elektrolytverlust, Energieverarmung).

Eine mit dem beschriebenen Zusatz stabilisierte Konserve kommt weder für die Transfusion als Frischblut in den ersten Tagen in Betracht, denn bereits am 3. Tag ist der ATP - Unterschied zuungunsten der Prüfserie signifikant, noch ist die Verwendung einer längeren Zeit mit Zusatz konservierten Konserve angezeigt, denn die Kalium- und Hämoglobinwerte im Serum sind eindeutig höher als in der reinen ACD - Konserve.

Der ATP - Gehalt ist ein zentraler Parameter, aus dem der Erfolg einer Bluttransfusion vorausgesagt werden kann (13). ATP ist notwendig zur Erhaltung der Blutzellen in ihrer Struktur, und es vermittelt den Zellen die Fähigkeit, sich den Kreislaufstrapazen anzupassen. Die Zahl der überlebenden Zellen steht in deutlicher Beziehung zum ATP-

Gehalt (13, 47). ATP - verarmte Zellen sind in ihrer Form rigide, wenig verformbar und damit mechanisch wenig resistent (7b, 33). Die Passage durch die Kapillaren erfordert eine erhebliche Anpassungsfähigkeit der Zellen in ihrer Gestalt, und diese Anpassungsfähigkeit ist an ATP, das Substrat von entsprechenden Membran - ATPasen gebunden (7a, 43).

Die Triggerfunktion des ATP im ATP - regenerierenden Glykolysesystem wurde herausgestellt.

Die Restitution des normalen elektrochemischen Natrium- und Kaliumgradienten ist in gleicher Weise an das ATP gebunden. Ist die Zelle nicht in der Lage, Kalium nach der Transfusion wieder zu konzentrieren, ist eine vollständige Reaktivierung der Zellfunktionen nicht zu erwarten. Ungenügende Kaliumkonzentrierung bedeutet eine Erniedrigung des Membranpotentials (37). Ab einer bestimmten Verminderung des Membranpotentials ist die Existenz der Zelle gefährdet (37).
I. MÜNCHEN beschreibt die Beziehungen zwischen dem ATP und dem Membranpotential, wie folgt: Das Potential ist dem ATP - Gehalt proportional; bei ATP-verlusten wird das Membranpotential geringer und führt funktionelle und morphologische Läsionen herbei (37).
Kalium ist in hoher Konzentration bei allen großen Stoffwechselwegen erforderlich (37, 50a). Deshalb ist ein Stabilisatorzusatz, der zu vermehrtem Kaliumverlust der Zellen führt, nicht brauchbar.

Aus den vorliegenden Untersuchungen darf nicht der Schluß gezogen werden, daß Magnesium - L - Aspartat in der Transfusionsmedizin keine Verwendung finden kann. Es wurde hier ein spezieller Fall, der Zusatz von 3 ml 20 %igem Magnesium - L - Aspartat beschrieben. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Substanz in anderer Konzentration und Zubereitung eine gewisse Aktivierung zeigt. Behindernde Faktoren wie Wasserverschiebung in den extrazellulären Raum und pH - Erniedrigung müssen verhindert werden, denn sie stellen eine Belastung für die konservierten Zellen dar, die eine eventuelle Aktivierung durch zu-

geführte Elektrolyte von vorneherein ausschließt. Da aber auch mit anderen Zubereitungen das Kernproblem der Konservierung, wie oben dargelegt, nicht zentral getroffen wird, ist Skepsis in jedem Fall angebracht.

Es ist zu fragen, ob es nicht sinnvoller ist, die Elektrolyt- Aspartat-Lösung gleichzeitig mit der Transfusion direkt dem Empfänger zu infundieren, um die Aktivierungshindernisse in vitro zu umgehen. Die Befunde von HELLER und JUNGER (23, 24) zeigen ja, daß in vivo der Stoffwechsel signifikant verbessert wird durch solche Maßnahmen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde experimentell ermittelt, wie sich der Zusatz von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung zu einem der üblichen ACD-Stabilisatoren auf den Stoffwechsel von gelagertem Blut auswirkt. Von 21 Spendern wurde jeweils die eine Hälfte des abgenommenen Blutes mit reiner ACD-Lösung konserviert, die andere Hälfte mit ACD unter Zusetzung von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung. Am 1., 3., 7., 21. Tag nach der Blutabnahme wurden zum Vergleich der Konservierungsarten Parameter des Energiestoffwechsels (ATP, ADP, AMP), Elektrolyte (Natrium im Serum, Kalium im Serum, Magnesium im Serum, Chlorid im Serum, anorganisches Phosphat im Serum), die Hämolyse und der Hämatokritwert bestimmt. Bei der Gegenüberstellung der entsprechenden Werte ließ sich ermitteln, daß der Zusatz von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung zum ACD-Stabilisator eine Verschlechterung des in - vitro - Stoffwechsels gegenüber der reinen ACD-Konservierung mit sich bringt. Die wichtigsten Ergebnisse bei Zusatz von 20 %iger Magnesium-L-Aspartat-Lösung waren:

1. eine Flüssigkeitsverschiebung vom intrazellulären Raum in das Extrazellulärvolumen mit Schrumpfung der Zellen
2. ein etwas früher einsetzender ATP - Abfall
3. ein im Vergleich zur reinen ACD - Konservierung sehr niedriger ADP - Spiegel
4. ein frühzeitig ansteigender AMP - Spiegel
5. eine bedeutend höhere Hämolyserate
6. eine starke Kaliumanreicherung im Serum
7. ein konstanter Magnesiumspiegel an allen 4 Bestimmungstagen.

Auf Grund der vorliegenden Messungen wurde festgestellt, daß Magnesium-L-Aspartat kein adäquates Gegenmittel für auftretende Konservierungsschäden ist, sondern die Verschlechterung des Eigenstoffwechsels von konserviertem Blut eher beschleunigt.

LITERATURVERZEICHNIS

1) BEGEMANN, H.: Klinische Hämatologie, 2. Auflage, Stuttgart: Thieme 1975

2) BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Auflage, Weinheim/Bergstraße: Chemie GmbH 1974

3) BESSIS, M.: Living blood cells and their ultrastructure, 1. Auflage, Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1973

4) BEUTLER, E., DURON, O.: Factors influencing the preservation of red cell ATP on storage, Folia Haemat. (Leipzig) 83, 509–515 (1965)

5) BLUM, K.U.: Stoffwechselveränderungen bei Lagerung von Blut Bibl. Haemat. 12, 20–63 (1961)

6) BOER, H.G., STEHLE, P., ROIGAS, H., RAPOPORT, S.: Dynamik des Austausches von anorganischem Phosphat in konservierten Erythrozyten des Menschen, Folia Haemat. (Leipzig) 90, 265–268 (1968)

7a) BREWER, G.J.: General red cell metabolism, in: SURGENOR, D.: The red blood cell, Vol.1, 2. Aufl., pp 387-426, New York, London: Academic Press, INC 1974

7b) BREWER, G.J.: Red cell metabolism and function, in: SURGENOR, D.: The red blood cell, Vol.1, 2. Aufl., pp 474-504, New York, London: Academic Press, INC 1974

8) BUCHER, O.: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 8. Aufl., Bern, Stuttgart, Wien: Hans Huber 1973

9) BUDDECKE, E.: Grundriß der Biochemie, 2. Aufl., Berlin: W. de Gruyter 1971

10) CRANDALL, E., KLOCKE, R., FORSTER, R.: Hydroxyl ion movements across the human erythrocyte membrane. Measurement of rapid pH changes in red cell Suspensions. J. Gen. Physiol. 57, 664-683 (1971)

11) VAN DAM, K.: Die Wirkung von Kalium-Magnesium-Aspartat (Inzolen) auf isolierte Leberzellen, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15. März 1975 in Frankfurt/Main, pp 33-40,

12) DENNEMANN, H.: Enzymatische Bestimmung von ATP im Vollblut, Ges. Exp. Med. 134, 335-340 (1961)

13) DERN, R.J., BREWER, G.J. and WIORKOWSKI, J.J.: Studies on the preservation of human blood. I. The relationship of erythrocyte ATP - levels and other in vitro measurements to red cell storageability, J. Lab. Clin. Med. 69, 968-978 (1967)

14) DOKTORANDEN - KOLLEKTIV des PHYSIOLOGISCH - CHEMISCHEN INSTITUTS, Berlin 1960/1961: Verhalten von Enzymen und Substraten bei Konservierung von Blut in verschiedenen Medien, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 620-622 (1962)

15) EATON, J.W., BREWER, G.J.: Pentose Phosphat metabolism, in: SURGENOR, D.: The red blood cell, Vol.1, 2. Auflage, pp 436-465, New York, London: Academic Press, INC 1974

16) FISCHER, H., FERBER, E., WOSEGIEN, F., FRITZSCHE, W., SPIELMANN, W.: Erythrozytenstoffwechsel und Blutkonservierung, Bibl. Haemat. 12, 76-93 (1961)

17) FOURNELL, A.: Biochemische Grundlagen der Wirkung von Kalium-Magnesium-Aspartat, in: BEER, R. und FINSTERER, U.: Biochemische Eigenschaften und Möglichkeiten der klinischen Anwendung von Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium 25. April 1970 in München, pp 9-14, Aulendorf: Editio Cantor 1971

18) GANONG, W.F.: Medizinische Physiologie, Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972

19) GARBY, L., DE VERDIER, CH.: Observations on the hexokinase activity in intact human erythrocytes, Folia Haemat. (Leipzig) 83, 313-316 (1965)

20) GARRAHAN, P.J., POUCHAN, M.J., REGA, A.F.: Kalium - activated phosphatase in red cells. J. Physiol. 202, 305-327 (1969)

21) GROBECKER, H. und PIECHOWSKI, U.: Ionengehalt, Ionentransport und Membran - ATPase der Erythrozyten in Blutkonserven, Z. Klin. Chemie 4, 126- 30 (1966)

22) HELLER, W.: Persönliche Mitteilung

23) HELLER, W., JUNGER, H., BRÜCKNER, R.: Wechselwirkungen von Kalium-Magnesium-Aspartat auf den Kohlenhydratstoffwechsel während Allgemeinanästhesie, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 57-70, 1975

24) HELLER, W., JUNGER, H., STOLZ, CH.: Die Beeinflussung des Energiestoffwechsels mit Kalium-Magnesium-Aspartat während Allgemeinanästhesie, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 215-224, 1975

25) HURN, B.: Storage of blood, London: Academic Press 1968

26) JACOBASCH, G., SYLLM-RAPOPORT, J., WOLF, K., RYMOW, J., MÜLLER, R.: Kohlehydratstoffwechsel roter Blutzellen des Hundes im Magnesiummangel, Folia Haemat. (Leipzig) 83, 416-422 (1965)

27) JAGOW, G. von: Der Einfluß von DL-Magnesium-Aspartat und Inzolen auf die Energieausbeute der oxidativen Phosphorylierung, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 23-32, 1975

28) JUNG, F.: Betrachtungen zur Struktur der Erythrozytenmembran, Folia Haemat. (Leipzig) 90, 182-195 (1968)

29) JUNGER, H.: Bluttransfusion und Empfängerorganismus, 1. Auflage, Stuttgart: Thieme 1977

30) KLÄGER, G.: Inaugural Dissertation in Vorbereitung

31) LACELLE, P., ROTHSTEIN, A.: The passiv permeability of the red blood cell to cations, J. Gen. Physiol. 50, 171-188 (1966)

32) LEHNINGER, A.L.: Biochemie, Weinheim/Bergstraße: Chemie 1975

33) LÖHR, G.W., WALLER, H.D.: Biochemie der Erythrozytenalterung, Folia Haemat. 78, 385-395 (1962)

34) LUTZEYER, W.: Die Citratstabilisatoren, Bibl. Haemat. 11, 17-34 (1960)

35) MARCSEK, Z.: Über die Bedeutung des Magnesium-Stoffwechsels, in: MENZEL, H.: Kalium-Magnesium-Aspartat zur klinischen Bedeutung von Inzolen in der Intensiv-Medizin, 2. Bielefelder Anästhesiologisches Colloquium zu Fragen der Intensiv-Medizin am 17.10.1970, pp 21-26, Bielefeld: 1971

36) MIRCEVOVA, M.: Zuckermetabolismus in Erythrozyten, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 463-470 (1962)

37) MÜNCHEN, I.: Aspartate, zur klinischen Bedeutung von Inzolen, Bremen 1974

38) NAKAO, M.: ATP - requiring phenomena in red cell membranes, in: YOSHIKAWA, H., RAPOPORT, S.: Cellular and molecular biology of erythrocytes, 1. Auflage, pp 35-54, München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1974

39) OCKEL, E., RAPOPORT, S., HINTERBERGER, U.: pH - Abhängigkeit der anaeroben Glykolyse und der Hexokinase, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 477-499 (1962)

40) PALEK, J., STEWART, G., LIONETTI, F.J.: The dependance of shape of human erythrocyte ghosts on calcium, magnesium, and ATP, Blood, 44, 583-597 (1974)

41) PASSOW, H.: Ionenpermeabilität roter Blutkörperchen, Bibl. Haemat. 12, 111-136 (1961)

42) PETRIDES, P.: Blut, in: HARPER, H., LÖFFLER, G., PETRIDES, P., WEISS, L.: Physiologische Chemie, pp 717-789, 1. Auflage, Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1975

43) PREISSLER, H., STEGMANN, E., ROIGAS, H.: Das Verhalten einiger membrangebundener Enzyme von Erythrozyten während der Blutkonservierung Folia Haemat. (Leipzig) 95, 441–448 (1971)

44a) RAPOPORT, S.: Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. I. Blood preserved in sodiume citrate, neutral, and acid citrate -glucose (ACD) mixtures, J.Clin.Invest. 26, 591–615 (1947)

44b) RAPOPORT, S.: Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. III Comparison of 3 dilutions of acid citrate-glucose solution (ACD), J.Clin.Invest. 26, 622–628 (1947)

45) RAPOPORT, S.: Reifung und Alterungsvorgänge in Erythrozyten, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 363–380 (1962)

46) RAPOPORT, S.: Stoffwechselregulation in Erythrozyten, Folia Haemat. (Leipzig) 83, 298–312 (1965)

47) RAPOPORT, S.: Medizinische Biochemie, 6. Auflage, Berlin: VEB Volk und Gesundheit 1975

48) RAPOPORT, S., ROSENTHAL, S., SCHEWE, T., SCHULTZE, M., MILLER, M.: The metabolism of the reticulocyte, in: YOSHIKAWA, H., RAPOPORT, S.: Cellular and molecular biology of erythrocytes, 1. Auflage, pp 93-141, München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1974

49) RICHTERICH, R.: Klinische Chemie, 3. Aufl., Basel, München, Paris, London, New York, Sydney: S. Karger 1971

50a) RING, K.: Biochemische Grundlagen des aktiven Aminosäuretransports (1-6), in: HUTSCHENREUTER, K.: Kalium-Magnesium-Aspartat mit Beiträgen zur metabolischen Bedeutung des Zinks, Kolloquium am 18.3.1972 in Homburg/Saar, pp 7-33

50b) RING, K.: in: HUTSCHENREUTER, K.: Kalium-Magnesium-Aspartat mit Beiträgen zur metabolischen Bedeutung des Zinks, Kolloquium am 18.3.1972 in Homburg/Saar, Diskussion pp 124/125, Homburg/Saar 1972

51) RING, K., GRIMM, E. und SCHWARZ, M.: Wechselwirkungen zwischen L-Aspartat und Kaliumionen beim Transport in lebende Zellen, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 3-22, 1976

52) SACHS, J.R., KNAUF, P.A., DUNHAM, P.B.: Transport through red cell membranes, in: SURGENOR, D.: The red blood cell, Vol.2, 2. Auflage, pp 613-695, New York, London: Academic Press, INC (1974)

53) SACHS, J.R., WELT, L.: Concentration dependence of active potassium transport in the human red blood cell, J.Clin.Invest. 46, 65-76 (1967)

54) SACHS, L.: Angewandte Statistik, 4. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1974)

55) SASS, M.D., CARUSO, C.J., AXELFOD, D.R.: Deterioration of young and old red cells stored at 4°C, Vox sang. 21, 327-337 (1971)

56) SCHMIDT, K., STUNKAT, R., HELLER, W.: Bestimmung der Hämolyse nach einer neuen Mikromethode bei Operationen mit der Herz-Lungen-Maschine, Med.Welt, 25, (N.F.) 98-102 (1974)

57) SCHMITT, H.: Läßt sich die Lagerungsfähigkeit von Blut durch Nucleoside verlängern? Bibl. Haemat. 12, 94-104 (1961)

58) SEBENING, F., STRUCK, E. und REYMANN, B.: Kalium-Substitution durch Kalium-Lactat oder -Asparaginat bei Operationen mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine, Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 3, 347-350 (1968)

59) SPIELMANN, W., SEIDL, S.: Einführung in die Immunhämatologie und Transfusionskunde, 1. Aufl. Weinheim/Bergstraße: Chemie GmbH (1972)

60) STOLTZ, J.F., VIGNERON, C., STREIFF, F.: Alterations of red blood cell osmotic fragility during storage of blood drawn on ACD solution Vox sang. 21, 86-89 (1971)

61) STRUCK, E., HELLER, J. und HAMELMANN, H.: Zur Behandlung von Elektrolytstoffwechselstörungen nach abdominalchirurgischen Eingriffen, in: HUTSCHENREUTER, K.: Kalium-Magnesium-Aspartat mit Beiträgen zur metabolischen Bedeutung des Zinks, Kolloquium am 18.3.1972 in Homburg/Saar, pp 67-79, 1972

62) STRUCK, E., MEISNER, H., SCHMIDT-HABELMANN, P., SEBENING, F.: Die Bedeutung von Magnesium im postoperativen Stoffwechsel, in: KRON-SCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 158-179, Frankfurt 1975

63) SYLLM-RAPOPORT, I., STRASSBURGER, I., RAPOPORT, S.: Glykolyse von Erythrozyten bei Magnesiummangel, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 474-476 (1962)

64) VALERI, C.R.: Liquid and freeze preservation of human red blood cells, in: SURGENOR, D.: The red blood cell. Vol1, 2. Auflage, pp 512-563, New York, London: Academic Press, INC 1974

65) DE VERDIER, C.-H.: Functional properties of stored red cells, Vox sang. 16, 361-372 (1969)

66) DE VERDIER, C.H., GARBY, L.: Blood preservation, in: YOSHIKAWA, H., RAPOPORT, S.M.: Cellular and molecular biology of erythrocytes, 1. Aufl., pp 409-425, München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1974

67) WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik, 7. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer 1972

68) WEED, R., LACELLE, P., MERRILL, E.: Metabolic deperdence of red cell deformability J.Clin.Invest 48, 795-809 (1969)

69) WILKE, H., FUNCK, R. und BRAUN, W.: Untersuchungen zum Kationentransport am isolierten Darm des Meerschweinchens, in: KRONSCHWITZ, H.: Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat, 15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main, pp 41-49, 1975

70) YOSHIKAWA, H., MINAKAMI, S.: The control of glycolysis in erythrocyte by active cation transport, Folia Haemat. (Leipzig) 83, 101-104 (1965)

71) YOSHIKAWA, H., NAKAO, M.: Nucleotide metabolism and its relation to functions of preserved human erys, Folia Haemat. (Leipzig) 78, 516-523 (1962)

LEBENSLAUF

Am 16. September 1952 wurde ich, Hans–Georg Schaible, als Sohn des Hermann Schaible und der Gertrud Schaible, geb. Lutz in Rottweil geboren.

Von 1959 bis 1963 besuchte ich die Grundschule in Deißlingen. Im Frühjahr 1963 trat ich in das Gymnasium in Schwenningen ein, wo ich am 16. Juni 1971 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich das Medizinstudium an der Eberhard–Karls–Universität in Tübingen. Dort bestand ich 1972 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1974 die Ärztliche Vorprüfung und 1975 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Im Sommersemester 1975 setzte ich das Medizinstudium an der Universität Hamburg fort, im Wintersemester 1975/76 kehrte ich nach Tübingen zurück. 1977 bestand ich den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

Im Mai 1977 begann mein Internatsjahr mit dem Wahlfach Neurologie an der Neurologischen Klinik der Universität Tübingen. Von August 1977 bis März 1978 absolvierte ich im Paracelsus–Krankenhaus Ruit in Ostfildern 1 für jeweils vier Monate die Pflichtfächer Innere Medizin und Chirurgie.
Den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung legte ich im Anschluß daran ab, den schriftlichen Teil am 18. April 1978 in Tübingen, den mündlichen Teil am 28. April 1978 in Ruit.